

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**  
**Departamento de Cirugía**



**ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO Y SUS  
IMPLICACIONES PRONÓSTICAS EN LOS  
ESTADIOS INICIALES DEL CARCINOMA DE  
PULMÓN NO MICROCÍTICO RESECADO.**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**  
**PRESENTADA POR**

**Pablo León Atance**

Bajo la dirección del doctor

Emilio Álvarez Fernández

**Madrid, 2010**

**ISBN: 978-84-693-9241-6**

**© Pablo León Atance, 2010**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA



**ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO Y SUS IMPLICACIONES  
PRONÓSTICAS EN LOS ESTADIOS INICIALES DEL  
CARCINOMA DE PULMÓN NO MICROCÍTICO RESECADO**

**MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**POR**

Pablo León Atance

**CURSO ACADÉMICO 2009-2010**

**A mis padres y mi hermana**

**A Rocío, Paula y Manuel**

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todos los que han colaborado para que pudiera realizar esta Tesis Doctoral.

Al Dr. Emilio Álvarez Fernández, Director de esta Tesis Doctoral, Jefe del Departamento de Anatomía Patológica y Laboratorios del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón” y Profesor Titular de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, por ofrecerme la posibilidad de realizar este trabajo, su tutela científica y su apoyo y estímulo en el desarrollo del mismo.

Al Dr. Federico González Aragonese, Co-Director de la Tesis Doctoral, Jefe de Servicio de Cirugía Torácica del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón”, por su colaboración en mi formación profesional y científica y por el apoyo que me ha prestado en la elaboración de esta tesis.

Al Dr. Nicolás Moreno Mata, Co-Director de la Tesis Doctoral, Médico Adjunto del Servicio de Cirugía Torácica del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón”, por su amistad, su dedicación personal en mi formación investigadora y su inestimable ayuda en la realización del estudio estadístico de este trabajo.

Al Dr. Miguel Ángel Cañizares Carretero, Jefe de Sección de Cirugía Torácica del Complejo Hospitalario Xeral-Cies de Vigo, por su

colaboración en la recogida de los datos clínicos de sus pacientes y el envío de las muestras histológicas para el estudio inmunohistoquímico.

Al Dr. Enrique Poblet Martínez, Médico Adjunto de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Universitario de Albacete, por su gran ayuda en la recogida de las muestras histológicas de este centro hospitalario.

A todo el personal del Laboratorio de Inmunohistoquímica del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón”, por el tiempo invertido en el análisis de las muestras.

A mis padres, mi hermana, Rocío, Paula y Manuel por su paciencia, cariño y apoyo incondicionales.

## **ABREVIATURAS**

---

- ABC. Complejo Avidina-Biotina
- AJCC. *American Joint Committee on Cancer*
- ATS. *American Thoracic Society*
- CAM. Molécula de adhesión celular
- DAB. Diaminobencidina
- EGFR. *Epidermal Growth Factor Receptor*
- EMT. Transición epitelial-mesenquimal
- ERS. *European Respiratory Society*
- GS. Grupo sanguíneo
- HLA. Antígeno Leucocitario Humano
- IASLC. *International Association for the Study of Lung Cancer*
- IG. Inmunoglobulina
- OMS. Organización Mundial de la Salud
- PBS. Solución tampón (*Phosphate Buffered Saline*)
- PET. Tomografía de Emisión de Positrones
- RNM. Resonancia Nuclear Magnética
- SEPAR. Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica
- TAC. Tomografía Axial Computarizada
- TTF-1. *Thyroid Transcription Factor-1*
- UICC. *Union Internationale Contre le Cancer*
- VEGF. *Vascular Endothelial Growth Factor*

## **ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS**



<u>TABLAS</u>	Pág.
I. Principales alteraciones genéticas en el cáncer de pulmón en relación con el tipo histológico.....	22
II. Variables recogidas para realizar el estudio.....	52
III. Variables utilizadas en el análisis de supervivencia.....	54
IV. Definiciones del mapa ganglionar de Mountain y Dressler.....	60
V. Estadios según el sistema internacional de clasificación revisado por Mountain para el Cáncer de Pulmón en 1997.....	61
VI. Mapa ganglionar de la IASLC de 2009 (adenopatías N3 y N2)...	65
VII. Mapa ganglionar de la IASLC de 2009 (adenopatías N1).....	66
VIII. Estadios según la 7ª edición de la clasificación TNM de los tumores malignos de 2009.....	66
IX. Valoración de la expresión tumoral del histoantígeno A.....	80
X. Distribución de los pacientes por hospitales.....	83
XI. Datos clínicos de los pacientes.....	84
XII. Principales comorbilidades asociadas.....	84
XIII. Datos de la intervención quirúrgica.....	85
XIV. Complicaciones postoperatorias.....	86
XV. Datos del tumor pulmonar.....	88
XVI. Distribución según el tamaño tumoral.....	88
XVII. Expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en tejidos normales.....	89

XVIII. Expresión tumoral del histoantígeno A en relación con el grupo sanguíneo.....	90
XIX. Expresión tumoral de histoantígeno A en pacientes con grupos sanguíneos A o AB.....	90
XX. Expresión tumoral de histoantígeno A según del porcentaje de células tumorales teñidas.....	92
XXI. Estado de supervivencia actual de los pacientes.....	94
XXII. Pacientes fallecidos por otras causas distintas al cáncer de pulmón.....	95
XXIII. Localización de las recidivas en los pacientes fallecidos.....	96
XXIV. Descripción de la supervivencia en función de variables.....	99
XXV. Análisis multivariable. Supervivencia global.....	109
XXVI. Datos clínicos (GS A o AB).....	111
XXVII. Principales comorbilidades asociadas (GS A o AB).....	113
XXVIII. Datos de la intervención quirúrgica (GS A o AB).....	113
XXIX. Complicaciones postoperatorias (GS A o AB).....	114
XXX. Datos del tumor pulmonar (GS A o AB).....	115
XXXI. Distribución según el tamaño tumoral (GS A o AB).....	115
XXXII. Estado de supervivencia actual de los pacientes (GS A o AB).....	116
XXXIII. Expresión del histoantígeno A en función de la edad.....	117
XXXIV Expresión del histoantígeno A en función del sexo.....	117

XXXV. Expresión del histoantígeno A en función del tipo	
histológico.....	118
XXXVI. Expresión del histoantígeno A en función del tipo de	
resección realizada.....	118
XXXVII. Expresión del histoantígeno A en función del	
estadio.....	119
XXXVIII. Expresión del histoantígeno A en función del descriptor	
T.....	119
XXXIX. Expresión del histoantígeno A en función del tamaño	
tumoral.....	120
XL. Supervivencia global según la expresión del histoantígeno A....	121
XLI. Supervivencia según la expresión del histoantígeno A y el	
estadio.....	123
XLII. Supervivencia según la expresión del histoantígeno A y el	
descriptor T.....	126
XLIII. Supervivencia según la expresión del histoantígeno A y el	
tipo histológico.....	130
XLIV. Análisis multivariable. Supervivencia global (GS A o AB).....	134
XLV. Frecuencias fenotípicas del grupo sanguíneo ABO en	
España.....	157
XLVI. Resumen de los artículos publicados en relación con la	
pérdida de la expresión del histoantígeno A.....	179

<u>FIGURAS</u>	Pág.
Figura 1: Diagrama de barras que muestra la expresión tumoral del histoantígeno A.....	91
Figura 2: Curvas de supervivencia en función de la edad.....	101
Figura 3: Curvas de supervivencia en función del sexo.....	102
Figura 4: Curvas de supervivencia en función del tipo histológico...	103
Figura 5: Curvas de supervivencia en función del tipo de resección	104
Figura 6: Curvas de supervivencia en función del estadio.....	105
Figura 7: Curvas de supervivencia en función del descriptor T.....	106
Figura 8: Curvas de supervivencia en función del tamaño tumoral..	107
Figura 9: Curvas de supervivencia en función de los grupos sanguíneos.....	108
Figura 10: Diagrama de cajas. Edad en función de la expresión tumoral del histoantígeno A (GS A o AB).....	112
Figura 11: Curvas de supervivencia: estadio I <sub>p</sub> y expresión histoantígeno A.....	122
Figura 12: Curvas de supervivencia: estadio IA y expresión histoantígeno A.....	124
Figura 13: Curvas de supervivencia: estadio IB y expresión histoantígeno A.....	125
Figura 14: Curvas de supervivencia: descriptor T1a y histoantígeno A.....	127



## ÍNDICE

---

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1. Epidemiología.....	2
- Incidencia.....	2
- Mortalidad.....	4
- Supervivencia.....	5
2. Etiopatogenia.....	6
3. Tipos histológicos.....	10
4. Estadificación.....	13
4.1 Definición.....	13
4.2 Historia de la estadificación del cáncer de pulmón.....	14
4.3 Fundamentos de la clasificación de los ganglios linfáticos en la estadificación del cáncer de pulmón.....	17
5. Alteraciones moleculares en el cáncer de pulmón.....	19
6. Factores pronósticos.....	23
7. Desarrollo de metástasis en estadios iniciales.....	26
8. Tratamiento quirúrgico.....	32
9. Antígenos del grupo sanguíneo ABH.....	38
9.1 Estructura y síntesis de los antígenos del grupo sanguíneo ABH.....	39
9.2 Histoantígenos del grupo sanguíneo ABH en cáncer.....	41

9.3 Pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en el cáncer de pulmón.....	42
10. Justificación del presente estudio.....	44
II. OBJETIVOS.....	46
III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	48
1. Material.....	49
1.1 Población y selección de la muestra para el estudio.....	49
1.2 Muestras biológicas.....	49
2. Métodos.....	51
2.1 Tipo de estudio.....	51
2.2 Datos clínicos.....	51
2.3 Concepto de resección quirúrgica completa.....	55
2.4 Estadio quirúrgico-patológico.....	56
2.5 Seguimiento de los pacientes en consultas externas.....	67
2.6 Mortalidad y recidiva.....	68
2.7 Datos morfológicos.....	70
2.8 Procesamiento de las muestras.....	74



2.9 Estudio inmunohistoquímico.....	76
2.10 Herramientas para el análisis estadístico.....	80
 IV. RESULTADOS.....	 82
1. Análisis descriptivo de nuestra serie quirúrgica.....	83
1.1 Datos clínicos.....	83
1.2 Datos de la intervención quirúrgica.....	85
1.3 Complicaciones postoperatorias.....	86
1.4 Datos del tumor pulmonar.....	87
2. Estudio inmunohistoquímico.....	89
3. Resultado del seguimiento de los pacientes.....	94
4. Análisis de supervivencia global.....	97
4.1 Curvas de supervivencia.....	100
4.2 Análisis multivariable.....	109
5. Análisis de la serie de pacientes con grupos sanguíneos A o AB...	111
5.1 Análisis descriptivo.....	111
5.1.1 Datos clínicos.....	111
5.1.2 Datos de la intervención quirúrgica.....	113
5.1.3 Complicaciones.....	114
5.1.4 Datos del tumor pulmonar.....	115

5.2 Estado de supervivencia de los pacientes con grupos sanguíneos A o AB.....	116
5.3 Comparación de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A en relación con otras variable pronósticas.....	116
5.4 Análisis de supervivencia.....	121
5.4.1 Análisis multivariable.....	133
 V. DISCUSIÓN.....	136
 1. Nueva clasificación TNM del cáncer de pulmón.....	137
2. Selección de la muestra.....	139
3. Validar nuestra serie de carcinomas no microcíticos en estadio I <sub>p</sub> según el nuevo sistema de estadificación del cáncer de pulmón.....	143
4. Estructura, síntesis y funciones de los oligosacáridos de la membrana celular.....	147
5. Antígenos del grupo sanguíneo ABH.....	153
5.1 Biosíntesis y estructura de los antígenos del grupo sanguíneo ABH.....	154

5.2 Alteraciones de la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH en cáncer.....	158
5.3 Alteraciones de la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH en cáncer de pulmón.....	169
5.4 Influencia pronóstica de la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en el cáncer de pulmón.....	173
5.5 Resumen y análisis de nuestros resultados.....	179
 VI. CONCLUSIONES.....	 185
 VII. ICONOGRAFÍA.....	 188
 VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	 192

## **I. INTRODUCCIÓN**

---

## **1. EPIDEMIOLOGÍA**

El cáncer de pulmón, por su incidencia y mortalidad, supone un problema de salud pública en los países occidentales<sup>1,2</sup>.

El inicio y evolución de este tumor están íntimamente relacionados con el consumo de tabaco. La población masculina de las zonas más industrializadas (Estados Unidos y países del centro y norte de Europa) comenzó a fumar a principios del siglo XX. En ese momento, el cáncer de pulmón era una enfermedad rara, pero su incidencia aumentó de manera progresiva a partir de la década de los 30<sup>3</sup>. Los primeros estudios epidemiológicos que se realizaron en la década de los 50, ya relacionaron el consumo de tabaco con el desarrollo del cáncer de pulmón<sup>4,5</sup>

### **Incidencia**

En España el ascenso del tabaquismo fue posterior, en torno a 1950 para los varones y 1970 para las mujeres, por lo que la tasa de incidencia de cáncer de pulmón en varones aumentó progresivamente hasta que alcanzó su máximo a finales de los años 90, como en la mayoría de los países del sur y del este de Europa<sup>6</sup>.

Las tasas de incidencia de cáncer de pulmón en Europa y en España en 1990 fueron 55.6 y 51.6 casos por 100.000 habitantes en varones y 10.3 y 3.4 casos por 100.000 habitantes en mujeres

respectivamente<sup>7</sup>. En 1998 la tasa de incidencia en los varones de nuestro país (54.6) ya había superado la europea (47.8)<sup>3</sup>.

En 2004, se estima que de los 2.886.800 nuevos casos de cáncer que se diagnosticaron en Europa, el más frecuente con un 13.2% del total y 381.500 casos fue el cáncer de pulmón<sup>8</sup>. Sin embargo, en 2006 se estima que el cáncer de pulmón fue el tercero en frecuencia y supuso el 12.1% del total de los cánceres que se diagnosticaron ese año (después del de mama con el 13.5 % y el de colon con el 12.9%), lo que es debido fundamentalmente a las medidas previas de control del tabaquismo<sup>9</sup>.

En España, en 2004 el cáncer de pulmón también fue el más frecuente con 18.800 casos de los 162.000 nuevos cánceres diagnosticados<sup>10</sup>.

Desde que comenzó a extenderse el cáncer de pulmón, la tasa de incidencia en la mujer ha sido inferior a la del varón, aunque durante los últimos años se ha registrado en todo el mundo una tendencia a la igualación de ambas, de modo que en Estados Unidos el cociente entre la tasa de incidencia del varón y la de la mujer se acerca a la unidad. En España, la relación varón / mujer (8.5 en 2003)<sup>11</sup>, aunque menos acusada que hace años, todavía es elevada y sustancialmente mayor que en otros países occidentales, en los que varía entre 1.3 y 4.5<sup>12,13</sup>.

Según el tipo histológico, aunque con diferencias temporales dependiendo de las distintas zonas geográficas, hay una tendencia universal al aumento de la proporción de adenocarcinomas y a la disminución de los epidermoides. Esta tendencia se registró a partir de la década de los setenta en Estados Unidos, donde el adenocarcinoma es hoy, con mucho, la variedad más común<sup>12,14</sup>. La misma tendencia se aprecia en España, aunque todavía el epidermoide sigue siendo la estirpe más frecuente (37.7%)<sup>11</sup> y el microcítico representa alrededor del 20% en la mayoría de los registros que se han realizado en nuestro país<sup>11,15</sup>.

### **Mortalidad**

En Europa el cáncer de pulmón sigue siendo la primera causa de mortalidad por enfermedad neoplásica maligna. Se estima que en 2006 fallecieron unos 334.800 pacientes por cáncer de pulmón, lo que supone el 19.7% de todas las muertes producidas por cáncer<sup>9</sup>.

En 2005 fallecieron en España 19.118 personas por cáncer de pulmón (16.647 varones y 2.471 mujeres). La tasa de mortalidad en varones pasó de 48.5/100.000 habitantes en 1980 a 65.8 en el año 2005, con un incremento anual medio del 0.9% y un descenso significativo del 0.7% a partir de 1994. En el caso de las mujeres, la tasa de mortalidad pasó de 5.7 en 1980 a 8.2 en 2005, con un incremento anual medio del 1.7% y un alarmante aumento del 6.3% anual a partir de 1992<sup>2,16</sup>.

La prevalencia de mujeres fumadoras entre 25 y 44 años ha disminuido durante el período 1997-2003. Esto indica que, si logramos que siga disminuyendo el consumo de tabaco entre las mujeres jóvenes, la mortalidad por cáncer de pulmón en mujeres no alcanzará los niveles observados en Estados Unidos<sup>16</sup>.

### **Supervivencia**

A diferencia de otras neoplasias en las que se han producido cambios positivos con la mejora del arsenal diagnóstico y terapéutico, el pronóstico del cáncer de pulmón sigue siendo muy pobre. La supervivencia global a los 5 años en Europa, expresada en tasas absolutas, no llega al 15% en ningún país<sup>17,18</sup>. Para los pacientes con carcinoma no microcítico se sitúa en torno al 15% y para los pacientes con carcinoma microcítico alrededor del 5%<sup>6</sup>.

Todos estos datos de incidencia, mortalidad y supervivencia ponen de manifiesto la magnitud del problema, sobre todo en el caso del carcinoma no microcítico, que es el objeto de este estudio y que supone el 80% aproximadamente del total de los cánceres de pulmón. Por tanto, en el momento actual el carcinoma no microcítico de pulmón es uno de los tumores con mayor incidencia en el mundo occidental y el que mayor mortalidad provoca y sigue teniendo un pronóstico muy malo a pesar de los avances médicos de las últimas décadas.



## **2. ETIOPATOGENIA**

El hábito tabáquico es el factor de riesgo más importante en la génesis del cáncer de pulmón. Aproximadamente, entre el 80 y el 90% de los casos están relacionados con el consumo de tabaco<sup>19,20</sup>. Sin embargo, sólo el 10-15% de los fumadores desarrollarán un cáncer de pulmón, lo que indica la existencia de una susceptibilidad determinada por la predisposición genética, aunque en la actualidad no se conocen los posibles genes implicados<sup>21</sup>.

Los primeros estudios que demostraron claramente una asociación epidemiológica entre el tabaco y la mortalidad por cáncer de pulmón se publicaron en 1950<sup>4,5</sup>. Desde entonces, un gran volumen de trabajos de investigación han confirmado dicha asociación<sup>22</sup>.

El riesgo relativo de que un fumador padezca un cáncer de pulmón se incrementa tanto con el número de cigarrillos fumados al día como con la duración total del hábito tabáquico. Otros factores que han demostrado aumentar el riesgo de desarrollar un cáncer de pulmón son la edad de comienzo, el grado de inhalación, el contenido de nicotina y alquitrán y el uso de cigarrillos sin filtro<sup>22</sup>.

El tabaquismo aumenta la probabilidad de padecer cualquier tipo histológico de cáncer de pulmón. El riesgo relativo es mayor en los

subtipos histológicos microcítico (12.9) y epidermoide (11.3), que en los subtipos adenocarcinoma (3.22) y carcinoma de células grandes (5.64)<sup>23</sup>.

El humo del tabaco contiene más de 300 sustancias químicas, de las cuales más de 40 son potenciales carcinógenos. Entre ellos destacan la N-nitrosamina y los hidrocarburos policíclicos aromáticos como el benzopireno<sup>22</sup>. La N-nitrosamina puede inducir mutaciones en el protooncogén *K-ras*, las cuales se encuentran en un 40% de los adenocarcinomas de pulmón y se relacionan con la exposición al tabaco<sup>24</sup>. Por otra parte, los hidrocarburos aromáticos inducen mutaciones en el gen supresor *p53* implicado en la regulación del ciclo celular, la reparación del ADN y la apoptosis. Estas mutaciones, que se manifiestan característicamente como transversiones G→T, se observan con mayor frecuencia en los cánceres de pulmón de pacientes fumadores<sup>25</sup>.

La gran mayoría de los cigarrillos consumidos en los países industrializados poseen filtros. Esto reduce el tamaño de las partículas inhaladas, lo que facilita el depósito de los carcinógenos en un nivel más profundo del pulmón. Además, la disminución del contenido de nicotina y alquitrán en los cigarrillos modernos suele ser compensada por los fumadores con inhalaciones más profundas y vigorosas. Estos datos pueden explicar en parte el incremento de la incidencia de adenocarcinomas<sup>6,22,26</sup>.

El abandono del hábito tabáquico reduce el riesgo de padecer un cáncer de pulmón, pero nunca se iguala con el del no fumador, ya que el daño genético en el epitelio respiratorio expuesto al tabaco puede persistir durante décadas aunque se abandone este hábito. Así, en Estados Unidos el 50% de los cánceres de pulmón se producen en exfumadores, por lo que se deduce que las células malignas aparecen muchos años después del daño genético provocado por el tabaco. Además, estas alteraciones genéticas se ven también en las células con morfología normal del epitelio bronquial de los pacientes fumadores<sup>27</sup>.

Otros factores ambientales que incrementan el riesgo de padecer un cáncer de pulmón son: el tabaquismo pasivo, la exposición a radiaciones ionizantes y a carcinógenos ocupacionales<sup>26</sup>.

Múltiples estudios epidemiológicos indican que la exposición involuntaria al humo de tabaco incrementa el riesgo de padecer cáncer de pulmón<sup>22,28</sup>, ya que los carcinógenos a los que está expuesto el fumador pasivo son esencialmente los mismos que los del fumador. Sin embargo, es mucho más difícil calcular el riesgo estimado debido a la variabilidad en la duración y la cantidad de la exposición, y a que se puede asociar con la exposición a otros carcinógenos ambientales<sup>29</sup>. Se estima que en España en el año 2002, la exposición involuntaria al humo del tabaco causó entre 1.228 y 3.237 muertes debidas a cáncer de pulmón y

cardiopatía isquémica, por lo que es un problema de salud pública que requiere mayor atención<sup>30</sup>.

El radón es un gas inerte procedente de la desintegración del radio 226 y el uranio 238. Se encuentra en la mayoría de los suelos, por lo que son los trabajadores de las minas subterráneas los que inhalan mayor cantidad. También puede detectarse en el interior de las viviendas, aunque en una cuantía 50-100 veces inferior<sup>14</sup>. En Europa se ha estimado que el radón puede ser el responsable del 9% de los cánceres de pulmón y del 2% de todas las muertes por cáncer<sup>22,31</sup>.

El asbesto es considerado el carcinógeno ocupacional más importante en Europa y el principal responsable de los casos de cáncer de pulmón atribuidos a los tóxicos del entorno laboral<sup>32</sup>. La coexistencia de exposición al asbesto y tabaquismo activo da lugar a un efecto sinérgico de tipo multiplicativo<sup>33</sup>. En España se ha calculado que un 4% de los cánceres de pulmón están relacionados con este mineral, aunque actuando de manera sinérgica con el consumo de tabaco<sup>34</sup>.

Por tanto, la predisposición genética y la exposición a los agentes carcinógenos, fundamentalmente el humo del tabaco, son los aspectos que condicionan la posibilidad que tiene una persona de llegar a padecer un cáncer de pulmón.

### 3. TIPOS HISTOLÓGICOS

La primera clasificación histológica moderna de tumores pulmonares la realizó Kreyberg en 1962<sup>35</sup>. Este trabajo sirvió de base para la clasificación de tumores pulmonares realizada por la OMS en 1967<sup>36</sup> y que posteriormente fue revisada en 1981<sup>37</sup>.

En 1999 la OMS y la *International Association for the Study of Lung Cancer* (IASLC) publicaron la tercera edición de la Clasificación histológica de los tumores de pulmón y pleura<sup>38</sup>, que contenía numerosos cambios y revisiones debido a los avances en el estudio del cáncer de pulmón que se habían producido desde la edición anterior de 1981. Los cambios más destacables fueron: la revisión de la clasificación de los tumores neuroendocrinos, la utilización de criterios más estrictos en la definición del carcinoma bronquioloalveolar y la introducción de dos nuevas lesiones preneoplásicas (la hiperplasia adenomatosa atípica y la hiperplasia difusa idiopática de células neuroendocrinas)<sup>39</sup>.

En 2004, después del consenso al que se llegó en la ciudad francesa de Lyon, la OMS publicó la clasificación histológica los tumores de pulmón que se usa en la actualidad<sup>40</sup>. Esta clasificación tiene como novedad más destacable el aportar una importante información complementaria sobre la biología molecular de muchos tipos de neoplasias pulmonares. Sin embargo, conserva la mayor parte de la

nomenclatura de la edición de 1999 y mantiene los 4 tipos histológicos principales<sup>41</sup>, que son: el carcinoma epidermoide, el adenocarcinoma, el carcinoma de células grandes y el carcinoma de células pequeñas. Estos tipos histológicos principales se subdividen a su vez en varios subtipos más específicos.

Aunque el cáncer de pulmón se puede dividir en muchos subtipos histológicos, desde el punto de vista clínico, la clasificación más importante es hacer dos grandes grupos: carcinoma microcítico y carcinoma no microcítico, ya que entre ambos existen importantes diferencias en su forma de presentación, diseminación metastásica, tratamiento y respuesta la mismo<sup>39,41</sup>.

La apariencia histológica de ciertos tumores pulmonares puede ser muy heterogénea. Hay tumores que presentan zonas de diferenciación escamosa y glandular. Cuando en un tumor existen áreas bien definidas de diferenciación glandular y escamosa, de al menos un 10% cada una, nos encontramos ante un tipo de tumor mixto denominado adenoescamoso.

A diferencia de lo que ocurre en Estados Unidos, el carcinoma epidermoide sigue siendo la estirpe histológica predominante en España (37.7%)<sup>11</sup>. Es más frecuente en varones y habitualmente se presenta como una masa de origen central que surge principalmente de bronquios

lobares o segmentarios, aunque un 25% pueden ser de localización periférica. Un 5% de los carcinomas epidermoides, fundamentalmente los de localización periférica, pueden presentar cavitación<sup>41</sup>.

El adenocarcinoma en España se presenta en un 20-25% de los casos<sup>42</sup>. Sin embargo, es el tipo histológico más frecuente en mujeres y en pacientes no fumadores<sup>43</sup>. Clínicamente suele manifestarse como un nódulo periférico que raramente muestra cavitación. Histológicamente representa un grupo típicamente heterogéneo y contiene más de un subtipo histológico en el 80% de los casos<sup>41</sup>.

El carcinoma de células grandes se define como un carcinoma indiferenciado de pulmón que carece de los rasgos citológicos del carcinoma microcítico y que no muestra diferenciación glandular o escamosa. Como la diferenciación es a menudo variable dentro de un tumor dado, un diagnóstico de carcinoma de células grandes requiere el examen exhaustivo de todas las muestras histológicas (se debe incluir y analizar el tumor entero) para excluir posibles áreas de diferenciación escamosa o glandular<sup>41</sup>. De este modo, se consigue disminuir su frecuencia y aumentar la incidencia de adenocarcinomas y carcinomas epidermoides pobremente diferenciados que antes se clasificaban dentro de este grupo. Es el tipo histológico menos frecuente. En España su incidencia se sitúa en torno al 10%<sup>42</sup>.

## **4. ESTADIFICACIÓN**

### **4.1 Definición**

El Diccionario de la Real Academia Española define estadificar como clasificar la extensión y gravedad de una enfermedad tumoral maligna. Por tanto, al estadificar lo que hacemos es agrupar los tumores malignos según su extensión anatómica con el fin de establecer grupos homogéneos en cuanto a su pronóstico y tratamiento<sup>44</sup>.

El principal problema de los sistemas de estadificación es identificar y dar el peso proporcional que corresponde a aquellos factores que tienen realmente un valor importante en la extensión de una determinada enfermedad neoplásica.

Para que un sistema de estadificación sea útil debe cumplir varios objetivos, unos básicos y otros formales. El objetivo básico es la disponibilidad de una sola clasificación universal que facilite la estimación pronóstica y la decisión terapéutica de forma diferenciada para cada grado de la escala tumoral. Esto conlleva su utilidad manifiesta en el intercambio de información científica entre los distintos centros investigadores. Desde el punto de vista formal, el objetivo de la estadificación es conseguir unas normas de clasificación aceptadas,



claras, sencillas, didácticas y fáciles de aprender y reproducir. La *Union Internationale Contre le Cancer* (UICC) y el *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) son las principales organizaciones internacionales responsables de la generación de las normas y de las escalas de estadificación de los tumores malignos en todo el mundo<sup>3</sup>.

#### **4.2 Historia de la estadificación del cáncer de pulmón**

En 1953 la UICC acordó adoptar como método de clasificación para todos los tumores el sistema TNM que Pierre Denoix había desarrollado entre 1943 y 1952<sup>45,46</sup>, ya que reunía los objetivos anteriormente descritos.

En 1966 la UICC recomendó el sistema TNM para la estadificación del cáncer de pulmón<sup>47</sup> y dos años más tarde, lo publicó en su primera edición de la clasificación TNM de los tumores malignos<sup>48</sup>.

En 1973 el *Task Force on Lung Cancer* del AJCC propuso un sistema de estadificación clínica del cáncer de pulmón utilizando el sistema TNM. Este sistema se basó en el análisis de los datos obtenidos de 2155 pacientes con cáncer de pulmón confirmado histológicamente que realizó el Dr. Clifton Mountain del *MD Anderson Cancer Center* de Houston<sup>49</sup>. En 1974, la UICC en su segunda edición de la clasificación

TNM de los tumores malignos, acepta las propuestas del AJCC para el cáncer de pulmón, garantizando la uniformidad entre los dos manuales de estadificación<sup>48</sup>.

A partir de 1973 se empezó a utilizar el sistema por estadios propuesto por el AJCC. En 1978 dicho sistema fue reemplazado por el de la UICC<sup>44</sup>.

En 1986 Mountain presentó una serie de modificaciones en el sistema de estadificación de cáncer de pulmón que fueron aprobadas tanto por el AJCC como por la UICC con el apoyo adicional del Comité de Estudio TNM de Japón y Alemania<sup>50</sup>. Esta normativa también fue adoptada por la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR)<sup>51</sup>.

En 1997 Mountain<sup>52</sup> propuso una nueva corrección del sistema anterior de estadificación que también fue aceptado por el AJCC y la UICC y al que también se adhirieron la *American Thoracic Society* (ATS)<sup>53</sup>, la *European Respiratory Society* (ERS)<sup>53</sup> y la SEPAR<sup>54</sup>. Esta clasificación, que es la que se ha venido utilizando hasta el año 2010, se basaba fundamentalmente en las series americana y japonesa<sup>55</sup> y posteriormente fue validada a nivel internacional en sus aspectos más generales<sup>3,56</sup>.

En 2009 la UICC y el AJCC publicaron la 7ª edición de la clasificación TNM de los tumores malignos, la cual ha entrado en vigor a partir enero de 2010. En esta edición, la actualización de la clasificación del cáncer de pulmón la ha realizado el Comité Internacional de Estadificación de la *International Association for the Study of Lung Cancer* (IASLC) con el Dr. P. Goldstraw como presidente<sup>57</sup>. Este nuevo sistema se publicó en la revista *Chest* en 2009<sup>58</sup> y tiene la ventaja de que se fundamenta en los resultados obtenidos de una base de datos internacional de pacientes con cáncer de pulmón, a diferencia de los propuestos por Mountain donde todos los datos procedían esencialmente de una sola institución.

En el sistema de estadificación TNM, la letra T representa al tumor primario y tiene varias categorías según el tamaño y extensión de la tumoración. La letra N representa la afectación de los ganglios linfáticos y también tiene varias categorías para describir la ausencia / presencia de afectación ganglionar y el grado de tal afectación. La letra M representa la enfermedad metastásica y también tiene varias categorías para describir la ausencia / presencia de dicha afectación. Por último, las diferentes combinaciones de T, N y M se agrupan por criterios pronósticos y terapéuticos para crear un número reducido de estadios de la enfermedad.

El Sistema Internacional de Clasificación revisado para el Cáncer de Pulmón propuesto por Mountain<sup>52</sup> y publicado en 1997 por la AJCC y la UICC y la 7ª edición de la clasificación TNM de los tumores malignos, publicada por la UICC y el AJCC en 2009<sup>58</sup> y que ha entrado en vigor a partir Enero de 2010, aparecen descritos en el apartado material y métodos.

#### **4.3 Fundamentos de la clasificación de los ganglios linfáticos en la estadificación del cáncer de pulmón**

El compromiso de los ganglios linfáticos locoregionales ensombrece el pronóstico de los pacientes con cáncer de pulmón, ya que la supervivencia disminuye a medida que aumenta el valor de la N, por lo que una evaluación precisa de la afectación ganglionar es esencial para una correcta estadificación y tratamiento. Dada la importancia de la evaluación ganglionar, es esencial disponer de una clasificación de las adenopatías para evitar posibles errores de estadificación y poder comparar los resultados entre los distintos centros.

Hasta 1997 existían dos clasificaciones de las áreas de adenopatías intratorácicas: la defendida por la ATS<sup>59</sup> y el Lung Cancer Study Group, que fue asumida en 1986 por la SEPAR<sup>51</sup> y la defendida por

el AJCC y la UICC, propuesta por Naruke y la Japan Lung Cancer Society<sup>60</sup>.

En 1997, con el fin de unificar estas dos clasificaciones, Mountain y Dresler<sup>61</sup> propusieron un nuevo mapa ganglionar que ha sido aceptado por el AJCC<sup>62</sup>, la UICC<sup>63</sup>, la ATS<sup>53</sup>, la ERS<sup>53</sup> y la SEPAR<sup>54</sup>, aunque la UICC<sup>63</sup> no eliminó de su atlas el mapa de la *Japan Lung Cancer Society*, que aparecía junto al nuevo mapa ganglionar<sup>54</sup>.

El mapa propuesto por Mountain y Dresler ha tenido una gran aceptación en Estados Unidos y en algunos países europeos. Sin embargo, en Japón se ha seguido utilizando el mapa de Naruke<sup>64</sup>. En 2000 se publicó la edición en inglés de la clasificación del cáncer de pulmón de la *Japan Lung Cancer Society*<sup>65</sup> donde se mantenía el mapa de Naruke con mejoras en las definiciones anatómicas de las estaciones linfáticas.

El mapa de Mountain y Dresler es el que se ha utilizado en España hasta 2010, año en el que ha entrado en vigor la 7ª edición de la clasificación TNM de los tumores malignos con el nuevo sistema de estadificación del cáncer de pulmón<sup>58</sup> y donde se ha propuesto un nuevo mapa ganglionar con el fin de unificar definitivamente los dos mapas que se han estado utilizando hasta la actualidad, ya que las discrepancias en

la nomenclatura que existen entre ambos dificultan mucho el análisis de los resultados del tratamiento del cáncer de pulmón<sup>64</sup>.

El mapa ganglionar de Mountain y Dresler<sup>61</sup> y el nuevo mapa ganglionar propuesto en la 7ª edición de la clasificación TNM de los tumores malignos<sup>58,64</sup>, se describen en el apartado material y métodos.

## **5. ALTERACIONES MOLECULARES EN EL CÁNCER DE PULMÓN**

El cáncer de pulmón es el resultado final de un proceso escalonado que incluye múltiples alteraciones genéticas y epigenéticas como resultado de la acción carcinogénica del tabaco y otros factores ambientales. Estas alteraciones pueden afectar a oncogenes y genes supresores tumorales, lo que origina la pérdida del control del crecimiento celular y conduce a la falta de diferenciación y al crecimiento aberrante del epitelio bronquial.

Los protooncogenes y los genes supresores tumorales son genes implicados en la regulación del ciclo celular. La alteración en la secuencia de nucleótidos de los protooncogenes desemboca en lo que se conoce como oncogenes, cuya principal característica es que poseen capacidad tumorigénica. Por su carácter dominante, es suficiente la alteración de uno de los dos alelos para que se desarrolle una actividad anómala con

capacidad carcinogénica. Las principales vías de activación de los oncogenes son: mutaciones puntuales, amplificación génica y traslocaciones cromosómicas. Por el contrario, los genes supresores tumorales, cuya función es codificar proteínas para el control y represión del ciclo celular, requieren de una alteración o inactivación en los dos alelos para poder generar un fenotipo tumoral. Sus principales vías de inactivación son: alteración alélica a través de mutaciones puntuales, deleciones en el material genético y pérdida de heterocigosidad e hipermetilación de las secuencias promotoras de los genes<sup>66</sup>.

En el cáncer de pulmón pueden encontrarse diversas alteraciones cromosómicas, tanto numéricas (aneuploidías<sup>67</sup>) como estructurales (deleciones<sup>68</sup>, traslocaciones<sup>69</sup>, mutaciones<sup>70</sup>, ganancias cromosómicas<sup>71</sup>). La inestabilidad cromosómica es un proceso frecuente en los diferentes tumores y puede contribuir a la carcinogénesis y a la progresión tumoral de dos formas: por predisponer a las pérdidas de heterocigosidad y las consecuentes manifestaciones fenotípicas de inactivación de genes supresores tumorales y por favorecer las polisomías cromosómicas que contienen oncogenes o genes promotores del crecimiento<sup>72</sup>.

El daño molecular en el cáncer de pulmón se localiza de forma predominante en determinadas regiones cromosómicas (3p, 9p, 13q, 17p) en las que están localizados genes supresores tumorales<sup>72</sup>. Idénticas

lesiones genéticas se han descrito en el epitelio bronquial de individuos fumadores sin evidencia histológica de cáncer<sup>27</sup>.

Una de las alteraciones genéticas más frecuente en el cáncer de pulmón es la pérdida de la heterocigosidad en el cromosoma 3p donde se localizan genes supresores tumorales fundamentales para la inhibición del proceso carcinogénico. Esta alteración se aprecia en más del 80% de los cánceres de pulmón independientemente del tipo histológico<sup>73</sup>.

La mutación más frecuente en el cáncer de pulmón es la del gen supresor P53. La pérdida de función del P53 sucede como un evento temprano en el cáncer de pulmón y se ha descrito también en lesiones preneoplásicas y en tejido periférico sano a las lesiones tumorales de pacientes con cáncer de pulmón<sup>66</sup>.

Otra alteración frecuente, sobre todo en los carcinomas microcíticos, es la inactivación del gen supresor pRb que se localiza en el cromosoma 13p14. El gen pRb codifica la proteína Rb cuya función es esencial en el control del paso de la fase G1 a la fase S del ciclo celular<sup>66,74</sup>.

En el carcinoma epidermoide, las sucesivas alteraciones genéticas que ocurren en el proceso carcinogénico convierte el epitelio bronquial normal en lesiones hiperplásicas, que posteriormente se transforman en displásicas y conducen al desarrollo del carcinoma in situ y al carcinoma



escamoso establecido. En el caso del adenocarcinoma, el epitelio se transforma en la lesión premaligna denominada hiperplasia adenomatosa atípica, que posteriormente pasa por la fase de displasia adenomatosa y termina con el desarrollo del adenocarcinoma<sup>74,75</sup>.

En la tabla I<sup>74</sup> se describen las principales alteraciones genéticas en el cáncer de pulmón en relación con el tipo histológico.

TABLA I

ALTERACIÓN MOLECULAR	Carcinoma epidermoide	Adenocarcinoma	Carcinoma de células grandes	Carcinoma microcítico
Pérdida de heterocigosidad 3p	> 80%	> 80%	50-60%	> 80%
Mutación del gen P53	> 40%	> 30%	> 40%	Rara
Expresión del gen P63	Sí	No	No	No
Expresión del gen de citoqueratina	CK5, 6, 13, 14, 16, 17,19	CK7, CK20	No	No
Mutaciones puntuales del EGFR	Infrecuentes	Frecuentes en fumadores (40%)	Infrecuentes	Infrecuentes
Expresión del gen EGFR	30-35%	45-55%	No referido	< 5%
Mutación del <i>K-ras</i>	Infrecuente	15-30% en fumadores	Frecuente en fumadores	Infrecuente
Expresión P16 <sup>INK4</sup>	Reducida en más del 70%	Reducida	Reducida	Reducida en el 50%
Expresión P21 <sup>WAF</sup>	Reducida	Reducida	No referida	No referida
Expresión de Cyclin D, E-2F	Aumentada en un 10%	Aumentada en un 25-40%	Aumentada	Significativamente aumentada (>70%)
Expresión del gen pRb	Reducida en un 15-35%	Reducida en un 15-35%	Reducida	Reducida en un 80-100%
Expresión del gen COX-2	Aumentada	Aumentada	No referida	Reducida
Expresión del gen de la cromogranina	No	No	90%	90-100%
Amplificación del gen c-Myc	Infrecuente	Infrecuente	Infrecuente	Frecuente
Expresión del gen Bcl-2	Normal	Normal	Normal	Aumentada

## **6. FACTORES PRONÓSTICOS**

La identificación de los factores pronósticos en el cáncer de pulmón tiene los siguientes objetivos:

- Asesorar en el pronóstico individual de un paciente.
- Seleccionar el tratamiento más adecuado.
- Definir nuevos criterios para clasificar los pacientes según grupos de riesgo.
- Ayudar a diseñar y orientar futuras investigaciones<sup>76</sup>.

En los últimos años se han identificado más de 150 variables que han sido descritas como factores pronósticos en el cáncer de pulmón y que pueden pertenecer al tumor, al paciente o al entorno<sup>77</sup>.

El factor pronóstico más importante es la clasificación TNM basada en los parámetros anatómicos fundamentales del cáncer de pulmón<sup>78</sup>, ya que el pronóstico empeora a medida que aumenta el estadio tumoral. Otros factores que empeoran el pronóstico son: el género masculino, la edad avanzada y el deterioro del estado general<sup>78,79</sup>.

Aparte de la información que aporta el descriptor T, el tamaño del tumor tiene valor pronóstico en si mismo. Por ello, el tamaño tumoral ha sido una de las variables más importantes a la hora de modificar los criterios de clasificación de la T en la 7ª edición de la clasificación TNM del cáncer de pulmón<sup>58,80,81</sup>.

La estirpe histológica es otro factor pronóstico importante, sobre todo la diferenciación entre carcinoma microcítico y no microcítico, por la influencia pronóstica especialmente negativa del primero. Como ya se ha comentado, la actual clasificación histológica de la OMS mantiene esta diferenciación y además, también mejora la precisión clasificatoria del carcinoma bronquioloalveolar, ya que presenta un pronóstico mejor que el resto de los tipos histológicos del carcinoma no microcítico<sup>41,78,82</sup>. Aunque sigue estando discutido, entre los carcinomas no microcíticos, el carcinoma epidermoide parece tener un mejor pronóstico que el adenocarcinoma, con la excepción ya referida del carcinoma bronquioloalveolar<sup>78,79,83</sup>.

Está en discusión si la diferenciación neuroendocrina es un factor pronóstico en el carcinoma no microcítico de pulmón<sup>84</sup>, aunque publicaciones recientes parecen indicar que tiene una influencia negativa en la supervivencia<sup>85-87</sup>.

En pacientes con enfermedad extendida, la pérdida de peso y el empeoramiento del estado general son los factores pronósticos más importantes<sup>42</sup>.

En los pacientes con enfermedad resecable, la cirugía es el tratamiento que conlleva los mejores resultados en cuanto a la supervivencia<sup>42</sup>. Por tanto, los factores que influyen en la operabilidad

(estado funcional respiratorio, comorbilidad cardiovascular, etc.) son importantes a para decidir si se puede realizar el tratamiento quirúrgico. En los pacientes ya intervenidos, el tipo de resección quirúrgica practicada también influye en el pronóstico<sup>88</sup>.

En los últimos años se han publicado muchos estudios sobre el valor pronóstico de diferentes marcadores moleculares en el cáncer de pulmón como: marcadores séricos, marcadores de proliferación celular, marcadores de adhesión celular y marcadores moleculares biológicos, entre los que se incluyen los reguladores del crecimiento celular (oncogén ras, receptor del factor del crecimiento epidérmico, *cer-b2* y el factor de crecimiento de hepatocitos), los reguladores de la cascada metastásica (antígeno polipeptídico tisular [TPA], ciclina D-1 y catepsina) y los reguladores de la apoptosis (p53 y bcl-2)<sup>74,77,89</sup>. La inmensa mayoría de ellos no son de aplicación en la práctica clínica diaria. Sin embargo, ya existen en el mercado fármacos que inhiben la unión del *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) con su receptor y e inhibidores del *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) que se utilizan en el tratamiento del carcinoma no microcítico avanzado. Por tanto, es importante el estudio de la expresión de estos factores para la realización de terapias individualizadas, ya que de ello depende la respuesta a las mismas<sup>74,89,90</sup>.

## **7. DESARROLLO DE METÁSTASIS EN ESTADIOS INICIALES**

Un 25% aproximadamente de los pacientes con cáncer de pulmón en el estadio clínico inicial más favorable (IA) a los que se les ha practicado una resección completa recidivan y fallecen antes de los 5 años<sup>81</sup>. La causa fundamental es la presencia de enfermedad micrometastásica en el momento de la resección, ya que el cáncer de pulmón puede desarrollar metástasis incluso con tamaños tumorales muy pequeños<sup>91</sup>.

No se sabe si la capacidad de desarrollar metástasis es un atributo individual del tumor que se desarrolla a lo largo de un periodo de tiempo o si el programa genético es el que determina la capacidad metastásica. Se supone que el potencial metastásico de los tumores pequeños viene determinado por su programación genética, pero a medida que aumenta el tamaño tumoral, lo más probable es que los programas genéticos permitan que la capacidad metastásica se haya activado. Por otro lado, hay que tener en cuenta que los distintos tipos histológicos del cáncer de pulmón tienen un riesgo diferente de desarrollar metástasis. El conocimiento de los factores genéticos que determinan el desarrollo de metástasis podría ser utilizado para distinguir los tumores en función de su potencial metastásico, permitiendo enfoques terapéuticos individualizados<sup>92</sup>.

La formación de metástasis es la culminación de la progresión neoplásica. Hanahan y Weinberg<sup>93</sup> describieron 6 características que deben adquirir las células hasta convertirse en cancerígenas: autosuficiencia en las señales de crecimiento, insensibilidad a las señales que inhiben el crecimiento, evasión de la apoptosis, potencial de replicación ilimitada, capacidad para mantener la angiogénesis y capacidad para invadir tejidos y formar metástasis. Sin embargo, la capacidad de dar metástasis no es inherente a todas las células neoplásicas. Algunos tumores como el carcinoma microcítico de pulmón forman lesiones secundarias con gran frecuencia y otros, como el glioblastoma multiforme, raramente metastatizan a pesar de ser localmente muy agresivos. El proceso metastásico comienza antes de que las células migren del tumor primario. Entre las primeras características que adquieren está la inestabilidad genética, que junto con la selección de las estirpes celulares más aptas dan como resultado la formación de poblaciones celulares resistentes al normal control homeostático del crecimiento, a la vigilancia inmunológica y a las restricciones ambientales. La tasa de progresión hacia el fenotipo metastásico varía dentro de cada tumor, pudiéndose encontrar diferentes subpoblaciones con distinto potencial maligno. Por tanto, no todos los tumores pueden metastatizar ni todas las células de los tumores con potencial metastásico pueden hacerlo<sup>94</sup>.

El potencial metastático se puede atribuir al incremento de la migración, invasión, extravasación, escape de la vigilancia inmunológica y proliferación celular bajo diferentes condiciones de crecimiento. Muchas de estas características se pueden originar por alteraciones específicas en la transducción de la señal, en el citoesqueleto, en moléculas de superficie o por proteínas secretadas. La degradación de la matriz extracelular y la alta motilidad pueden ser los principios básicos más importantes para la formación de metástasis, mientras que ciertas moléculas de superficie pueden determinar la preferencia metastásica por los diferentes órganos<sup>92</sup>.

La diseminación del cáncer de pulmón se produce por la invasión de las células tumorales de los vasos sanguíneos y linfáticos, lo que permite que estas puedan viajar a lo largo del cuerpo. Sin embargo, para que se formen las metástasis es preciso que células tumorales circulantes se adhieran al endotelio de los capilares o vasos linfáticos y traspasen la membrana endotelial del órgano diana. Por lo tanto, solo células tumorales que expresen las moléculas de adhesión correctas serán capaces de fijarse e invadir con éxito la nueva localización en el cuerpo<sup>95</sup>.

El balance entre proliferación celular e incremento del volumen tumoral y el efecto negativo de la necrosis y apoptosis modula el crecimiento tumoral. La hipoxia y la hipoglucemia inducen la producción local de citoquinas proangiogénicas y se produce un aumento de la

expresión de moléculas de adhesión y la liberación de enzimas proteolíticas<sup>95</sup>.

El proceso que ocurre desde que algunas células de un tumor en crecimiento escapan de su ambiente local, viajan a los órganos diana evitando los mecanismos de defensa del organismo, dejan el torrente circulatorio y comienzan el proceso de crecimiento, se conoce como cascada metastásica, que consta de los siguientes pasos<sup>96</sup>:

- Invasión vascular. Es el paso del espacio extracelular al vascular y requiere que la célula tumoral atraviese la matriz extracelular y la membrana basal endotelial. Las células metastásicas tienen una mayor capacidad de degradar la matriz extracelular que las células del tumor primitivo<sup>97</sup>. En el genoma humano hay más de 500 genes que codifican proteasas. Las más importantes en la degradación de la matriz extracelular son las metaloproteasas, las cuales se encuentran sobreexpresadas en las células tumorales.
- Transición epitelial-mesenquimal (EMT). Por este proceso las células neoplásicas podrían adquirir la capacidad de metastatizar al desdiferenciarse a un fenotipo de célula mesenquimal más móvil. Una vez establecidas en el nuevo ambiente, podrían revertir el proceso y adquirir un fenotipo no metastatizante, vía transición mesenquimal-epitelial<sup>94</sup>.



- Evasión de la apoptosis al perder la relación con las células vecinas y la matriz extracelular. Las células no tumorales requieren de la interacción con la matriz extracelular para sobrevivir. Este es el mecanismo más importante para mantener la homeostasis y la integridad del tejido. Por tanto, una vez degradada la membrana basal por las proteasas, es necesario que las células tumorales eviten la apoptosis para sobrevivir. Esto lo hacen interaccionando con otras células tumorales o con células que median la inflamación o las plaquetas.
- Evasión del sistema inmune a través de la disminución de la expresión del antígeno leucocitario humano (HLA) clase I y la producción de citoquinas inmunosupresoras.
- Extravasación. En este proceso juegan un papel importante las metaloproteasas y los receptores de superficie de la familia de las moléculas de adhesión celular (CAM), para que las células tumorales puedan fijarse los órganos diana.
- Latencia. Una vez en el órgano diana, las células metastásicas pueden permanecer quiescentes durante largos periodos de tiempo, debido a la acción de agentes antiangiogénicos, el control del sistema inmunitario o señales del entorno extracelular.
- Proliferación. La proliferación de un foco metastásico requiere de un aporte sanguíneo que le suministre oxígeno y nutrientes. La formación de nuevos vasos sanguíneos en respuesta a la demanda

metabólica del tumor o angiogénesis es imprescindible, ya que un tumor no puede crecer más allá 2 ó 3 milímetros sin neovascularización<sup>98</sup>. El agente angiogénico más conocido es el VEGF, que es un potente factor de crecimiento de las células endoteliales. Su expresión es estimulada por la hipoxia y diferentes citoquinas<sup>74</sup>. Se encuentra sobreexpresado en las células tumorales y está implicado en el crecimiento de las metástasis<sup>99</sup>.

Por otro lado, las alteraciones en la trasducción de la señal también contribuyen al desarrollo de metástasis. El caso más conocido y estudiado es el del EGFR, que es un receptor tirosín quinasa cuyo gen se localiza en el brazo corto del cromosoma 7 (7p12). Su activación provoca la proliferación, diferenciación, adhesión celular y protección frente a la apoptosis. También se ha relacionado con la angiogénesis, la motilidad y migración celular, por lo que juega un papel importante en capacidad invasora tumoral y el desarrollo de metástasis. Entre el 43 y el 89% de los cánceres de pulmón sobreexpresa el EGFR<sup>100</sup>. Es más frecuente en los carcinomas epidermoides (70%), seguido por los adenocarcinomas (50%) y es rara su expresión en carcinomas microcíticos<sup>101,102</sup>.

Desde que en 1995 El Grupo Cooperativo de Carcinoma de Pulmón no Microcítico publicara el primer metaanálisis sobre el tratamiento con quimioterapia adyuvante en el cáncer de pulmón, varios estudios aleatorizados han confirmado la mejora en la supervivencia que

proporciona la quimioterapia adyuvante basada en el platino en los estadios iniciales del cáncer de pulmón resecado completamente. Sin embargo, en el estadio IA la quimioterapia no ha tenido dicho efecto, presentado en muchos casos un efecto perjudicial por la toxicidad añadida que conlleva. Por tanto, tendría un especial interés dentro de este grupo la identificación de los pacientes con alto riesgo de desarrollar metástasis para poder individualizar los tratamientos con quimioterapia adyuvante o neoadyuvante y mejorar la supervivencia<sup>91,103-106</sup>.

## **8. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO**

La cirugía es el tratamiento de elección en los estadios iniciales del cáncer de pulmón. La primera neumonectomía con éxito por cáncer la realizó Graham en 1933. Al principio, la neumonectomía era la única intervención quirúrgica aceptada en el tratamiento del cáncer de pulmón y sólo se consideraba la lobectomía en los pacientes con morbilidad cardíaca o pulmonar asociada que no pudieran tolerar la resección de un pulmón completo. Años más tarde se demostró que la lobectomía proporcionaba tasas de supervivencia similares a la neumonectomía si la lesión podía ser resecada completamente<sup>107,108</sup>.

Aunque no existen estudios aleatorizados que demuestren la superioridad de la cirugía frente a la quimioterapia o la radioterapia,

tradicionalmente se considera la cirugía como el tratamiento de elección de los estadios iniciales del cáncer de pulmón. Sin embargo, las aceptables tasas de supervivencia tras realizar una resección quirúrgica completa, comparadas con los pobres resultados a largo plazo sin cirugía, convierten al tratamiento quirúrgico en el método terapéutico estándar<sup>109,110</sup>.

Las recomendaciones actuales concluyen, que si no existen contraindicaciones de tipo médico, la resección quirúrgica completa continúa siendo el tratamiento de elección en los estadios iniciales del cáncer de pulmón, aunque los métodos y abordajes quirúrgicos están evolucionando<sup>111</sup>.

*The Lung Cancer Study Group* publicó en 1995 los resultados de un estudio prospectivo aleatorizado en el que se comparaba la resección limitada frente a la lobectomía en pacientes con carcinomas no microcíticos periféricos de pulmón en estadio I, observando el triple de recidivas locales en el grupo de las resecciones limitadas<sup>88</sup>. Desde entonces, la lobectomía se considera el tratamiento de elección para este grupo de pacientes, reservándose las resecciones limitadas para los pacientes que por su comorbilidad o deterioro de la función respiratoria no pueden tolerar una resección lobar<sup>111</sup>.

Sin embargo, la generalización del uso de la TAC (Tomografía Axial Computarizada) y la mejora de las técnicas de exploración después de la década de los 80 del siglo pasado, cuando se realizó el estudio de *The Lung Cancer Study Group*, han aumentado la tasa de detección de pequeños cánceres, lo que ha conducido a volver a plantearse los potenciales beneficios de las resecciones sublobares para pequeños cánceres periféricos de pulmón<sup>112</sup>.

Además, también se han hecho importantes avances en las evaluaciones patológicas y por TAC del adenocarcinoma de pulmón, especialmente en el carcinoma bronquioloalveolar<sup>113</sup>. Algunos autores han estudiado la estrecha relación que existe entre el patrón radiológico en vidrio deslustrado y el índice de desaparición de la sombra tumoral en la TAC de alta resolución (definido como el porcentaje de la sombra del tumor que desaparece al comparar la ventana de pulmón con la de mediastino), con las características biológicas de los pequeños adenocarcinomas periféricos de pulmón<sup>114</sup>. Cuando el patrón en vidrio deslustrado o el índice de desaparición de la sombra del tumor es mayor del 50%, los tumores no presentan afectación ganglionar y raramente presentan invasión microscópica, por lo que la inmensa mayoría serían carcinomas bronquioloalveolares que, como es conocido, presentan un mejor pronóstico que el resto de los adenocarcinomas. Por tanto, los

tumores que presentas estas características podrían ser candidatos a realizar una resección sublobar<sup>115-117</sup>.

Las recomendaciones actuales sobre el carcinoma bronquioloalveolar concluyen que en los pacientes en los que se sospecha que padecen este tipo de cáncer y son buenos candidatos para el tratamiento quirúrgico, una resección sublobar puede ser apropiada, siempre que la TAC muestre un patrón en vidrio deslustrado puro y que la anatomía patológica intraoperatoria confirme que se trata de un carcinoma bronquioloalveolar puro sin evidencia de invasión y los márgenes quirúrgicos de resección estén libres de enfermedad<sup>118</sup>.

Por otro lado, además de la resección quirúrgica del tumor, es preciso valorar la afectación ganglionar, para realizar una correcta clasificación tumoral patológica. A pesar de que determinadas situaciones como el tamaño tumoral, el tipo histológico, la localización, etc., pueden condicionar en mayor o menor grado la presencia de afectación mediastínica<sup>119,120</sup>, no existe en la actualidad ningún dato que nos asegure la existencia o no de afectación ganglionar. Por tanto, es obligatorio, desde un punto de vista oncológico, la evaluación ganglionar intraoperatoria, que debe abarcar tanto a los ganglios intrapulmonares e hiliares como a los mediastínicos<sup>121</sup>.

Desde un punto de vista técnico, la evaluación del mediastino se puede realizar de diversas formas<sup>122</sup>:

- Biopsia. Se define como biopsia la extirpación o la toma de uno o varios ganglios pulmonares y mediastínicos, sin intención de hacer un muestreo de todas las estaciones ganglionares. Sus indicaciones son las toracotomías exploradoras y las resecciones incompletas.
- Muestreo ganglionar. Consiste en la exploración mediante extirpación de ganglios de al menos las estaciones paratraqueales, subcarínica e hilar<sup>123,124</sup>.
- Disección ganglionar sistemática. La disección ganglionar sistemática se define como la extirpación de todos los ganglios en todas las estaciones ganglionares del pulmón y del mediastino del lado operado, a ser posible en bloque con la grasa circundante, de tal forma que no quede constancia visual ni palpatoria de ganglios en ese hemitórax.
- Disección ganglionar extendida. Se define como la disección de los ganglios pulmonares y mediastínicos contralaterales, como complemento a la disección ganglionar sistemática ipsilateral al tumor. La disección ganglionar extendida, estaría indicada en los carcinomas broncogénicos izquierdos y se realizaría por esternotomía media, con o sin toracotomía. La disección ganglionar

extendida derecha también se puede realizar por vídeotoracoscopia y tiene por finalidad el evitar la esternotomía media.

Si no se realiza una adecuada linfadenectomía, no se puede valorar correctamente el descriptor N, lo que puede provocar la infraestadificación de los pacientes y evitar la realización de tratamientos adyuvantes que realmente estarían indicados. En la literatura existen resultados divergentes entre el muestreo ganglionar y la disección ganglionar sistemática, pero parece que esta última identifica un mayor número de pacientes con ganglios metastatizados y podría tener un efecto positivo en la supervivencia<sup>123-125</sup>, aunque las recomendaciones actuales mantienen la validez de los dos sistemas<sup>111</sup>.

Las técnicas de broncoplastia y angioplastia se utilizan para realizar la resección completa de un tumor evitando la neumonectomía. Sus resultados, en términos supervivencia, son superiores a ésta, sin incrementar el número de recidivas locales<sup>126-128</sup>, por lo que las recomendaciones actuales concluyen que en los pacientes con tumores de localización central o localmente avanzados, en los que es posible la resección completa del tumor por una u otra técnica, la lobectomía en manguito es de elección frente a la neumonectomía<sup>111</sup>.



La vía de abordaje quirúrgico habitual para la realización de una resección pulmonar reglada es la toracotomía. Sin embargo, en los últimos años se está generalizando el uso de la vídeotoracoscopia para la realización de lobectomías<sup>129-131</sup>. Tanto es así, que las recomendaciones actuales concluyen que en los pacientes con carcinomas no microcíticos de pulmón en estadio I que se consideran candidatos apropiados para una resección pulmonar anatómica por toracoscopia, el uso de la cirugía toracoscópica videoasistida por cirujanos experimentados en estas técnicas se acepta como alternativa a la toracotomía abierta<sup>111</sup>.

En comparación con la toracotomía, la lobectomía por toracoscopia en pacientes con carcinomas no microcíticos de pulmón en estadios iniciales se asocia a una menor morbilidad y una mejora en las tasas de supervivencia<sup>132,133</sup>, en probable relación con la menor agresión que sufre la pared torácica (hecho de especial importancia en pacientes con función respiratoria límite o comorbilidad importante), la menor respuesta inflamatoria y la menor alteración inmunitaria que supone un abordaje menos cruento<sup>134,135</sup>.

## **9. ANTÍGENOS DEL GRUPO SANGUÍNEO ABH.**

El sistema del grupo sanguíneo ABO(H) fue descubierto por K. Landsteiner en 1900<sup>136</sup> y es el más importante de entre los 29 sistemas

de grupos sanguíneos<sup>137</sup>. Los antígenos del grupo sanguíneo ABH se describieron originalmente en la membrana de los glóbulos rojos, pero posteriormente se han encontrado en la mayoría de los epitelios, endotelios y secreciones del organismo<sup>138</sup>. Consisten en una variedad de glicolípidos y glicoproteínas cuya especificidad antigénica viene determinada por la variación en los constituyentes de sus cadenas de carbohidratos<sup>139</sup>.

### **9.1 Estructura y síntesis de los antígenos del grupo sanguíneo ABH.**

El primer paso en la biosíntesis de los antígenos del grupo sanguíneo ABH es la adición de una L-Fucosa, por acción de la  $\alpha$ 1,2-fucosiltransferasa sobre un precursor disacárido unido a lípidos o proteínas, para formar el antígeno H. Sobre el antígeno H actúan las transferasas específicas de los genes A ó B, para transportar nuevos azúcares y configurar los diferentes oligosacáridos que confieren la especificidad de grupo. En el caso del grupo A se añade una N-acetilgalactosamina por acción de la  $\alpha$ 1,3-N-acetilgalactosaminiltransferasa y en el caso del grupo B se añade una galactosa por acción de la  $\alpha$ 1,3-galactosiltransferasa. El alelo O codifica proteínas sin actividad transferasa, por lo que el antígeno H es la única estructura ABH presente en el grupo sanguíneo O<sup>140</sup>.

La síntesis del antígeno H es controlada por dos fucosiltransferasas codificadas por dos genes distintos que se localizan en el brazo largo del cromosoma 19<sup>141,142</sup>. Uno es el gen H (FUT1), que controla la expresión de los antígenos ABH en los glóbulos rojos, endotelios y epitelios. Los individuos que excepcionalmente carecen del gen H (hh), no podrán manifestar los antígenos del grupo sanguíneo ABH y se les denomina fenotipo “Bombay”. Este fenotipo es extremadamente raro y su frecuencia está en torno 1-10 casos por millón de habitantes. El otro es el gen Secretor (FUT2), que es el responsable de la expresión de los antígenos ABH en las secreciones, aunque también en algunas células epiteliales. A diferencia del fenotipo “Bombay”, aproximadamente un 20% de la población occidental carece del gen Secretor (sese), por lo que no podrán expresar los antígenos ABH en las secreciones<sup>143,144</sup>.

Los genes del grupo sanguíneo ABO se localizan en el brazo largo del cromosoma 9 (9q34.1-q34.2) y consta 7 exones. El locus ABO tiene tres formas alélicas principales (A, B y O). El alelo A codifica la  $\alpha$ 1,3-N-acetilgalactosaminiltransferasa y el alelo B la  $\alpha$ 1,3-galactosiltransferasa. El alelo O difiere del alelo A en la simple delección de un nucleótido de guanina en la posición 261 y conlleva la pérdida de la actividad transferasa<sup>140</sup>.

El grupo sanguíneo ABO se divide en varios subgrupos según la cantidad de antígeno A, B o H que expresan. En el grupo sanguíneo A es donde se identifica el mayor número de subgrupos<sup>140</sup>.

## **9.2 Histoantígenos del grupo sanguíneo ABH en cáncer.**

Los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH se pueden encontrar, no sólo en los eritrocitos, sino también en muchas células, fundamentalmente de tipo epitelial, aunque también se han detectado en células del endotelio vascular, algunas neuronas sensoriales, en las secreciones e incluso, en los ovocitos. Sin embargo, no se han encontrado en los músculos o tejidos conectivos<sup>138,144,145</sup>.

Cambios en la estructura de los carbohidratos de los glicolípidos y glicoproteínas de la membrana celular se han demostrado durante el desarrollo, durante la maduración celular en los tejidos adultos y en relación con el desarrollo de lesiones malignas<sup>144,146</sup>.

Los carcinomas se asocian frecuentemente con alteraciones en la glicosilación de los lípidos y proteínas de la membrana celular, donde se expresan los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH. Estos antígenos están implicados en varios procesos biológicos como la diferenciación,

maduración y proliferación celular, la transformación maligna y la señalización intercelular<sup>147</sup>.

La reducción o pérdida de expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH se describió por primera vez en el cáncer gástrico<sup>148</sup>. Desde entonces, este fenómeno se ha descrito en carcinomas de la cavidad oral, pulmón, estómago, colon, páncreas, laringe, endometrio, ovario, próstata, vejiga y mama<sup>144</sup>. La pérdida de la expresión de dichos antígenos también se ha descrito en lesiones premalignas de la mucosa gástrica, próstata, mucosa cervical, mama, mucosa oral<sup>144</sup> y en la metaplasia escamosa bronquial<sup>149,150</sup>.

### **9.3 Pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en el cáncer de pulmón.**

La pérdida de la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH en los carcinomas de pulmón es un hecho conocido, como ya publicaron Davidsohn y Ni<sup>151</sup> en 1969. Hirohashi et al.<sup>152</sup> demostraron la presencia de histoantígenos del grupo sanguíneo ABH en las secreciones mucosas de las glándulas bronquiales y las células caliciformes, la reducción o pérdida de expresión en las células cancerosas y la acumulación de sus precursores. Álvarez Fernández y Carretero Albiñana<sup>149</sup> describen con detalle la expresión de los

histoantígenos del grupo sanguíneo ABH en el árbol respiratorio y encuentran como un hecho destacado la delección del histoantígeno del grupo sanguíneo A en los cánceres de pulmón. Sin embargo, la influencia en el pronóstico de la pérdida de expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH varía mucho según los diferentes estudios.

Ogawa et al.<sup>153</sup> encuentran un peor pronóstico en los pacientes con cáncer de pulmón en estadio I que pierden la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH.

Matsumoto et al.<sup>154</sup> relacionan la pérdida de expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH en el cáncer de pulmón con un mayor potencial metastásico, fundamentalmente debida a metástasis hematógenas.

Moldvay et al.<sup>83</sup> demuestran un mejor pronóstico de en los pacientes con adenocarcinomas de pulmón que expresan los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH.

Lee et al.<sup>155</sup> demuestran que la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en las células tumorales es un importante factor pronóstico favorable en los pacientes con carcinoma no microcítico de pulmón. Hallazgos similares son descritos por Graziano et al.<sup>156</sup> y por Ulger et al.<sup>157</sup>.

Sin embargo, artículos como los de Gwin et al.<sup>158</sup>, Rice et al.<sup>159</sup> y Dresler et al.<sup>160</sup> tienen resultados contradictorios con los anteriores y concluyen que la pérdida o la reducción de la expresión del histoantígeno de grupo sanguíneo A en pacientes con cáncer de pulmón carece de relación con la supervivencia.

## **10. JUSTIFICACIÓN DEL PRESENTE ESTUDIO.**

El cáncer de pulmón sigue siendo la primera causa de mortalidad por enfermedad neoplásica maligna.

En 2009 la UICC y el AJCC publicaron la 7ª edición de la clasificación TNM de los tumores malignos, en la que se han realizado importantes modificaciones en la estadificación del cáncer de pulmón.

Un 30% aproximadamente de los pacientes con cáncer de pulmón en estadio I a los que se les ha practicado una resección completa recidivan y fallecen antes de los 5 años, fundamentalmente por el desarrollo de metástasis a distancia, aunque no se conocen los mecanismos ni en que pacientes se van a producir estas recurrencias.

La quimioterapia adyuvante podría mejorar la supervivencia en los cánceres de pulmón en estadio I con mayor riesgo de desarrollar

metástasis, pero no existen criterios objetivos de selección de este subgrupo de pacientes.

Los estudios encaminados a identificar los tumores en estadio I con mayor riesgo de recidiva pueden contribuir a una mejor selección de los pacientes que podrían beneficiarse del tratamiento adyuvante.

En la literatura, existe controversia sobre si la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en los pacientes con cáncer de pulmón influye o no en la supervivencia.

Por tanto, la determinación del valor pronóstico de la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en los cánceres de pulmón en estadio I (donde la influencia de otras variables es mucho menor) podría ser de utilidad para seleccionar los pacientes con mayor riesgo de desarrollar metástasis.



## **II. OBJETIVOS**

---

1. Validar nuestra serie de carcinomas no microcíticos de pulmón en estadio I quirúrgico-patológico (I<sub>p</sub>) según la 7<sup>a</sup> edición de la clasificación TNM de los tumores malignos, que fue publicada por el AJCC y la UICC en 2009.
2. Analizar la influencia pronóstica de la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en los carcinomas no microcíticos de pulmón en estadio I<sub>p</sub>.

### **III. MATERIAL Y MÉTODOS**

---

## **1. MATERIAL**

### **1.1 Población y selección de la muestra para el estudio.**

Pacientes intervenidos por carcinoma no microcítico de pulmón en los Servicios de Cirugía Torácica del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón” (entre los años 1991 y 2005), del Complejo Hospitalario Xeral-Cies de Vigo (entre los años 2000 y 2004) y del Complejo Hospitalario Universitario de Albacete (entre los años 2001 y 2006), en estadio I quirúrgico-patológico (I<sub>p</sub>) mediante una resección pulmonar completa, que no han recibido tratamiento de inducción y que además cumplen los siguientes requisitos:

- Posibilidad de seguimiento tras el tratamiento quirúrgico
- Ausencia de tratamiento adyuvante

### **1.2 Muestras biológicas.**

Las muestras histológicas de tejido tumoral analizadas constituyen el material para el estudio anatomopatológico y para la identificación de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A, mediante técnicas de inmunohistoquímica.

Al tratarse de un estudio realizado con pacientes intervenidos en los servicios de Cirugía Torácica de 3 hospitales, las piezas de resección quirúrgica fueron estudiadas en los Servicios de Anatomía Patológica de sus respectivos centros.

En los 3 hospitales se ha seguido un protocolo común en el procesamiento de las piezas de resección:

- Habitualmente se realiza un estudio intraoperatorio del límite de resección bronquial; por ello la pieza se envía en fresco al Servicio de Anatomía Patológica, donde se mide y pesa, se seleccionan los bloques de tumor que se fijan en formaldehído y posteriormente se congelan. El resto de la pieza se fija mediante instilación transbronquial de formol tamponado, que se deja en el fijador un tiempo aproximado de 24 horas.
- Después de este proceso, la pieza de resección quirúrgica se secciona ampliamente y la totalidad del tumor queda incluida en bloques de parafina de 4-6 cm<sup>2</sup> aproximadamente. El estudio inmunohistoquímico se realiza con las muestras más representativas de las incluidas en parafina.

Tras el estudio exhaustivo de las piezas de resección quirúrgica en los Servicios de Anatomía Patológica de los 3 hospitales, los bloques de parafina de los pacientes intervenidos en el Complejo Hospitalario Xeral-Cies de Vigo y en Complejo Hospitalario Universitario de Albacete se

enviaron al Departamento de Anatomía Patológica del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón”, donde se realizó un nuevo análisis con hematoxilina-eosina para confirmar el diagnóstico histológico y el estudio inmunohistoquímico.

## **2. MÉTODOS**

### **2.1 Tipo de estudio.**

Se trata de un estudio retrospectivo de análisis de supervivencia y de determinación de factores pronósticos.

### **2.2 Datos clínicos.**

Los datos clínicos de los pacientes se recogieron en un protocolo común para los 3 centros sanitarios que participan en el estudio y posteriormente se introdujeron en una la base de datos de Microsoft Access® que se diseñó para el análisis de los mismos.

Esta base de datos incluye variables clínicas, de los estudios de imagen, del protocolo de intervención quirúrgica y del informe de

anatomía patológica, de la evolución postoperatoria y del seguimiento en las consultas externas. Posteriormente se han introducido los resultados del estudio inmunohistoquímico realizado a las muestras de los tumores de los pacientes intervenidos en los 3 hospitales y que se analizaron en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón” (tabla II).

Tabla II

VARIABLES ANALIZADAS	
Clínicas	Edad
	Sexo
	Tabaquismo
	Fecha de diagnóstico de cáncer de pulmón
	Comorbilidad
Estudios de imagen	Lateralidad
	Localización anatómica
Protocolo de intervención quirúrgica e informe de anatomía patológica	Fecha de intervención quirúrgica
	Tipo de resección pulmonar
	Tamaño tumoral
	Estirpe histológica
	Grado de diferenciación
	Estadio quirúrgico-patológico
Evolución postoperatoria	Complicaciones
Seguimiento postoperatorio	Fecha de la última revisión
	Estado de la enfermedad
	Fecha y localización de la recidiva
	Fecha y causa de muerte

Dentro de las variables clínicas se recoge información sobre la edad, tanto como variable cuantitativa y como categórica (mayor de 70 años y menor o igual de 70 años), sexo, antecedente de tabaquismo, fecha de diagnóstico del cáncer de pulmón y comorbilidad. Se considera exfumador si el paciente ha abandonado el consumo de tabaco al menos un año antes del diagnóstico de cáncer de pulmón. Se define la presencia de comorbilidad si el paciente presentaba alguna de las siguientes patologías: enfermedad cardíaca, enfermedad vascular periférica, diabetes, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o insuficiencia renal.

Dentro de las variables de los estudios de imagen se recoge información acerca del hemitórax afecto y de la localización del cáncer de pulmón.

Del protocolo de intervención quirúrgica y del informe de anatomía patológica, se recoge información sobre la fecha de intervención quirúrgica, el tipo de resección, el tamaño tumoral, la estirpe histológica, el grado de diferenciación del cáncer de pulmón y el estadio quirúrgico-patológico ( $E_p$ ).

De la evolución postoperatoria, se recoge información sobre las complicaciones surgidas. Se registran también los pacientes que han



precisado la colocación de un drenaje torácico por hemotórax, neumotórax o empiema como complicaciones.

Del seguimiento en la consulta externa, se recoge información sobre el estado de la enfermedad, así como la última fecha de revisión. Se anota si se ha producido recidiva y su localización. Si ha fallecido, se averigua la fecha y la causa de la muerte.

Para el análisis de supervivencia y de factores pronósticos se seleccionaron las variables que se describen en la tabla III.

Tabla III

<b>VARIABLES UTILIZADAS EN EL ANÁLISIS DE SUPEVIVENCIA UNIVARIABLE</b>
Edad
Sexo
Estadio quirúrgico patológico
T (TNM)
Tipo histológico
Tipo de resección
Tamaño
Expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A

Como ya se ha expuesto en la introducción, el factor pronóstico más importante en el carcinoma no microcítico de pulmón resecado es el estadio patológico de la clasificación TNM<sup>78</sup>. Aparte de la información que aporta el descriptor T, el tamaño del tumor tiene valor pronóstico en si mismo, por lo que también se ha incluido entre las variables para el estudio de la supervivencia<sup>58,80,81</sup>.

Otros factores pronósticos que también se han descrito son: la edad<sup>78,79</sup>, el sexo<sup>78,79</sup>, el tipo de resección quirúrgica<sup>88</sup> y la estirpe histológica<sup>78,82</sup>, por lo que estas variables también se han incluido en el estudio.

### **2.3 Concepto de resección quirúrgica completa.**

Se considera la lobectomía como la resección pulmonar estándar. La neumonectomía se lleva a cabo cuando es requerida por razones técnicas u oncológicas. Cuando es técnicamente factible, se sustituye la neumonectomía por una resección en manguito bronquial y/o arterial en los tumores del eje bronquial.

La bilobectomía se realiza en tumores del lóbulo superior o del inferior derechos que afectan también al lóbulo medio o a su bronquio. La presencia de enfermedad ganglionar hiliar en tumores del lóbulo inferior

derecho puede requerir la realización de una bilobectomía inferior para su correcto tratamiento quirúrgico-oncológico.

La lobectomía, la bilobectomía y la neumonectomía se consideran resecciones regladas.

La resección pulmonar atípica se practica en pacientes de alto riesgo quirúrgico o con pobre reserva cardiorrespiratoria.

Por último, en los 3 hospitales se realiza de forma rutinaria una linfadenectomía sistemática tras la resección pulmonar, que incluye los ganglios de los territorios hiliar y mediastínico.

#### **2.4 Estadío quirúrgico-patológico.**

Como se trata de un estudio retrospectivo, todos los pacientes fueron intervenidos antes de que se publicara la 7ª edición de la clasificación TNM de los tumores malignos, la cual ha entrado en vigor a partir Enero de 2010. Por tanto, el estadío quirúrgico-patológico se determinó utilizando el sistema internacional de clasificación revisado para el cáncer de pulmón, que fue adoptado en 1997 por el AJCC y la UICC y publicado por Mountain en 1997<sup>52</sup> y que se detalla a continuación.

## Definiciones TNM<sup>52</sup>

### Tumor primario (T)

- TX: El tumor primario no puede ser evaluado, o el tumor se ha comprobado por la presencia de células malignas en el esputo o secreciones bronquiales pero no ha sido visualizado por broncoscopia o métodos de imagen.
- T0: No hay evidencia de tumor primario.
- TIS: Carcinoma in situ.
- T1: Un tumor que mide 3 cm o menos en su diámetro mayor, rodeado por pleura visceral y sin evidencia broncoscópica de invasión más proximal que un bronquio lobar.
- T2: Un tumor con cualquiera de las siguientes características:
  - o Mide más de 3 cm en su dimensión mayor
  - o Compromete el bronquio principal y está a 2 o más cm de distancia de la carina traqueal
  - o Invade la pleura visceral
  - o Está relacionado con atelectasia o neumonitis obstructiva que se extiende a la región hilar, pero que no compromete todo el pulmón.
- T3: Un tumor de cualquier tamaño que invade directamente: pared torácica (incluyendo tumores del sulcus superior), diafragma, pleura mediastínica, pericardio parietal; o un tumor en el bronquio

principal a menos de 2 cm de distancia a la carina pero sin compromiso de la misma; o atelectasia asociada o neumonitis obstructiva de todo el pulmón.

- T4: Un tumor de cualquier tamaño que invade cualquiera de los siguientes órganos: el mediastino, el corazón, los grandes vasos, la tráquea, el esófago, el cuerpo vertebral, la carina; o nódulo/s tumoral/es separado/s del original en el mismo lóbulo; o tumor con derrame pleural maligno.

#### **Adenopatías regionales (N)**

- NX: No se pueden valorar los ganglios regionales.
- N0: No hay metástasis a los ganglios linfáticos regionales.
- N1: Metástasis en los ganglios linfáticos peribronquiales ipsilaterales, los ganglios linfáticos hiliares ipsilaterales o ambos y los ganglios intrapulmonares incluyendo el compromiso por extensión directa del tumor primario.
- N2: Metástasis en los ganglios mediastínicos ipsilaterales y/o, subcarínicos.
- N3: Metástasis en los ganglios mediastínicos contralaterales, hiliares contralaterales, escalénicos o supraclaviculares (ipsi o contralaterales).

#### **Metástasis a distancia (M)**

- MX: No se puede valorar la presencia de metástasis a distancia.

- M0: Sin metástasis a distancia.
- M1: Metástasis a distancia, incluyendo nódulo/s tumorales en otro lóbulo diferente ipsi o contralateral.

Los datos de los descriptores T y N se obtienen de la pieza quirúrgica, determinando el tamaño, la extensión del tumor y la presencia o ausencia de afectación ganglionar. El estudio de extensión para valorar la existencia de metástasis a distancia se realiza en el preoperatorio mediante los datos clínicos, los estudios analíticos, la TAC toracoabdominal, la TAC craneal y/o resonancia nuclear magnética (RNM) ante la presencia de síntomas neurológicos y en algunos casos, con la tomografía de emisión de positrones (PET). La PET, que en la actualidad se utiliza rutinariamente, no se había generalizado como método de estadificación cuando se intervinieron la gran mayoría de los pacientes de este estudio, por lo que sólo se ha realizado en muy pocos casos. Ante la sospecha de enfermedad metastásica, se realiza confirmación histológica mediante el procedimiento más adecuado en cada paciente.

La identificación y denominación de cada uno de los ganglios linfáticos resecados se realizó de manera intraoperatoria en el momento de realizar la linfadenectomía, utilizando la clasificación de Montain y Dresler<sup>61</sup>. Las definiciones de su mapa ganglionar figuran en la tabla IV.

Tabla IV<sup>61</sup>

Estación ganglionar	LIMITES ANATÓMICOS
<b>N2</b>	<b>Las adenopatías N2 se sitúan por dentro de la pleura mediastínica</b>
1.Adenopatías mediastínicas más altas	Adenopatías situadas sobre una línea horizontal en el borde superior de la vena braquiocefálica (vena innominada izquierda), donde asciende hacia la izquierda, cruzando delante de la tráquea en su línea media
2.Adenopatías paratraqueales superiores	Adenopatías situadas sobre una línea horizontal tangencial al margen superior del cayado aórtico y bajo el límite inferior de las adenopatías N° 1
3.Adenopatías prevasculares y retrotraqueales	Las adenopatías prevasculares y retrotraqueales pueden ser designadas 3A y 3P: las adenopatías de la línea media son consideradas ipsilaterales
4.Adenopatías paratraqueales inferiores	Las adenopatías paratraqueales derechas se sitúan en el lado homónimo de la línea media de la tráquea entre una línea horizontal tangencial al borde superior del cayado aórtico y una línea trazada que cruza el bronquio principal derecho en el borde superior del bronquio del lóbulo superior derecho y por dentro de la pleura mediastínica; las adenopatías paratraqueales izquierdas se sitúan en el lado homónimo de la línea media de la tráquea entre una línea horizontal tangencial al borde superior del cayado aórtico y que cruza el bronquio principal izquierdo a la altura del borde superior del bronquio del lóbulo superior izquierdo, mediales al ligamento arterioso y por dentro de la pleura mediastínica
5.Adenopatías subaórticas (ventana aortopulmonar)	Las adenopatías subaórticas son laterales al ligamento arterioso, a la aorta o a la arteria pulmonar izquierda, y proximales a la primera rama de la arteria pulmonar izquierda y por dentro de la pleura mediastínica
6.Adenopatías paraaórticas (aorta ascendente o frénica)	Adenopatías situadas anteriores y laterales de la aorta ascendente y el cayado de la aorta o de la arteria innominada, bajo una línea tangencial al borde superior del cayado aórtico
7.Adenopatías subcarínicas	Adenopatías situadas caudalmente a la carina traqueal, pero no asociadas a los bronquios o las arterias lobares inferiores dentro del pulmón
8.Adenopatías paraesofágicas (por debajo de la carina)	Adenopatías adyacentes a la pared del esófago a ambos lados de la línea media, excluyendo las adenopatías subcarínicas
9.Adenopatías del ligamento pulmonar	Adenopatías en contacto con el ligamento pulmonar, incluyendo aquellas situadas en la pared posterior y bajo la vena pulmonar inferior
<b>N1</b>	<b>Adenopatías situadas distalmente a la reflexión pleural mediastínica y por dentro de la pleura visceral</b>
10.Adenopatías hiliares	Las adenopatías lobares proximales, distales a la reflexión pleural mediastínica y las situadas adyacentes al bronquio intermediario en la derecha; radiográficamente, la sombra hilar puede estar formada por el engrosamiento tanto de las adenopatías hiliares como interlobares
11.Adenopatías interlobares	Adenopatías situadas entre los bronquios lobares
12.Adenopatías lobares	Adenopatías adyacentes a los bronquios lobares distales
13. Adenopatías segmentarias	Adenopatías adyacentes a los bronquios segmentarios
14.Adenopatías subsegmentarias	Adenopatías en torno a los bronquios subsegmentarios

La clasificación por estadios se resume en la tabla V<sup>52</sup>.

Tabla V

ESTADIO	DESCRIPTOR TNM		
<b>Carcinoma Oculto</b>	TX	N0	M0
<b>Estadio 0</b>	TIS	N0	M0
<b>Estadio IA</b>	T1	N0	M0
<b>Estadio IB</b>	T2	N0	M0
<b>Estadio IIA</b>	T1	N1	M0
<b>Estadio IIB</b>	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
<b>Estadio IIIA</b>	T3	N1	M0
	T1-3	N2	M0
<b>Estadio IIIB</b>	Cualquier T	N3	M0
	T4	Cualquier N	M0
<b>Estadio IV</b>	Cualquier T	Cualquier N	M1

Posteriormente, para realizar este estudio los pacientes se reestadificaron según el Sistema de Estadificación TNM-2009 de la IASLC, UICC y AJCC<sup>57,58</sup>. Las definiciones de los descriptores TNM son los siguientes.



### **Tumor primario (T)**

- **TX:** Tumor primario que no puede ser evaluado, o tumor probado por la presencia de células malignas en el esputo o en el aspirado bronquial pero no visible por imagen o por broncoscopia.
- **T0:** No evidencia de tumor primario.
- **Tis:** Carcinoma in situ.
- **T1:** Tumor  $\leq 3$  cm en su diámetro mayor, rodeado por pulmón o pleura visceral, sin evidencia broncoscópica de invasión más proximal que el bronquio lobar (por ejemplo, no en el bronquio principal).
  - o T1a Tumor  $\leq 2$  cm en su diámetro mayor\*.
  - o T1b Tumor  $>2$  cm pero  $\leq 3$  cm en su diámetro mayor.
- **T2:** Tumor  $>3$  cm pero  $\leq 7$  cm o tumor con cualquiera de las siguientes características (los tumores T2 con las siguientes características se clasifican T2a si el tamaño tumoral es  $\leq 5$  cm):
  - Afectación del bronquio principal  $\geq 2$  cm distal a la carina.
  - Invasión de la pleura visceral.
  - Asociado con atelectasia o neumonitis obstructiva que se extiende hasta la zona hilar pero no afecta al pulmón entero.
  - o T2a: Tumor  $> 3$  cm pero  $\leq 5$  cm en su diámetro mayor.
  - o T2b: Tumor  $> 5$  cm pero  $\leq 7$  cm en su diámetro mayor.
- **T3:** Tumor  $> 7$  cm,

- O tumor que invade directamente cualquiera de las siguientes estructuras: pared torácica (incluyendo tumor del sulcus superior), diafragma, nervio frénico, pleura mediastínica, pericardio parietal.
- O tumor en el bronquio principal a menos de 2 cm de la carina\* pero sin afectación de la misma.
- O atelectasia o neumonitis obstructiva asociada del pulmón entero.
- O uno o varios nódulos tumorales separados en el mismo lóbulo que el tumor primario.
- **T4:** Tumor de cualquier tamaño que invade cualquiera de lo siguientes estructuras: mediastino, corazón, grandes vasos, tráquea, nervio recurrente, esófago, cuerpo vertebral o carina.
  - O presencia de uno o varios nódulos tumorales separados en un lóbulo diferente ipsilateral

#### **Adenopatías regionales (N)**

- **NX:** No puede evaluarse.
- **N0:** Ausencia de metástasis ganglionares regionales.
- **N1:** Metástasis en ganglios homolaterales intrapulmonares, peribronquiales y/o hiliares, incluyendo afectación por extensión directa.

- **N2:** Metástasis en ganglios mediastínicos homolaterales y/o subcarínicos.
- **N3:** Metástasis en ganglios hiliares o mediastínicos contralaterales, o en los ganglios escalénicos o supraclaviculares homo o contralaterales.

### **Metástasis (M)**

- **M0:** No metástasis a distancia.
- **M1a:** Uno o varios nódulos tumorales contralaterales, o tumor con nódulos pleurales o derrame pleural o pericárdico maligno
- **M1b:** Metástasis a distancia

\* El infrecuente tumor con extensión superficial de cualquier tamaño con el componente invasivo limitado a la pared bronquial, que se puede extender proximalmente al bronquio principal, también se clasifica como T1.

En las tablas VI y VII se exponen las definiciones del nuevo mapa ganglionar de la IASLC de 2009 y en la tabla VIII se resume la clasificación por estadios.

Tabla VI<sup>64</sup>

Estación ganglionar	Límites anatómicos
<b>Adenopatías N3</b>	
<b>1:</b> ganglios cervicales bajos, supraclaviculares o de la escotadura esternal	Límite superior: borde inferior del cartílago cricoides. Límite inferior: ambas clavículas y en la línea media, el borde superior del manubrio esternal. 1R designa los ganglios del lado derecho y 1L los ganglios del lado izquierdo de esta región. Para los ganglios de la estación 1, la línea media de la tráquea sirve como límite entre los ganglios 1R y 1L
<b>Adenopatías N2</b>	
<b>2:</b> ganglios paratraqueales altos	2R. Límite superior: ápex del pulmón derecho y del espacio pleural y, en la línea media, el borde superior del manubrio esternal. Límite inferior: Intersección del margen caudal de la vena innominada con la tráquea. Como ocurre con los ganglios 4R, los 2R incluyen ganglios que se extienden hasta el borde lateral izquierdo de la tráquea 2L. Límite superior: ápex del pulmón izquierdo y del espacio pleural y, en la línea media, el borde superior del manubrio esternal Límite inferior: borde superior del cayado aórtico
<b>3:</b> ganglios prevasculares y retrotraqueales	3a: Prevascular. En el lado derecho; límite superior: ápex del tórax. Límite inferior: nivel de la carina. Límite anterior: cara posterior del esternón. Límite posterior: cara anterior de la vena cava superior. En el lado izquierdo; Límite superior: ápex del tórax. Límite inferior: nivel de la carina. Límite anterior: cara posterior del esternón. Límite posterior: arteria carótida izquierda 3p: Retrotraqueal. Límite superior: ápex del tórax. Límite inferior: carina
<b>4:</b> ganglios paratraqueales bajos	4R: incluye los ganglios paratraqueales derechos y los pretraqueales que se extienden hasta el borde izquierdo de la tráquea. Límite superior: Intersección del margen caudal de la vena innominada con la tráquea. Límite inferior: borde inferior de la vena ácigos. 4L: incluye los ganglios a la izquierda del borde izquierdo de la tráquea y mediales al ligamento arterioso. Límite superior: borde superior del cayado aórtico. Límite inferior: borde superior de la arteria pulmonar principal izquierda
<b>5:</b> ganglios subaórticos (ventana aortopulmonar)	Incluye los ganglios subaórticos laterales al ligamento arterioso Límite superior: borde inferior del cayado aórtico. Límite inferior: borde superior de la arteria pulmonar principal izquierda
<b>6:</b> ganglios paraaórticos (de la aorta ascendente o frénicos)	Incluye los ganglios anteriores y laterales a la aorta ascendente y al cayado aórtico Límite superior: una línea tangencial al borde superior del cayado aórtico. Límite inferior: el borde inferior del cayado aórtico
<b>7:</b> ganglios subcarínicos	Límite superior: la carina traqueal. Límite inferior: el borde superior del bronquio lobar inferior en el lado izquierdo y el borde inferior del bronquio intermediario en el lado derecho
<b>8:</b> ganglios paraesofágicos	Incluye los ganglios adyacentes a la pared del esófago, tanto a la izquierda como la derecha, excluyendo los ganglios subcarínicos Límite superior: el borde superior del bronquio lobar inferior en el lado izquierdo y el borde inferior del bronquio intermediario en el lado derecho. Límite inferior: el diafragma
<b>9:</b> ganglios del ligamento pulmonar	Incluye los ganglios que están dentro del ligamento pulmonar. Límite superior: la vena pulmonar inferior. Límite inferior: el diafragma

Tabla VII<sup>64</sup>

Estación ganglionar	Límites anatómicos
<b>Adenopatías N1</b>	
<b>10:</b> ganglios hiliares	Incluye los ganglios adyacentes a los bronquios principales y los vasos hiliares incluyendo la porción proximal de las venas pulmonares y de la arteria pulmonar principal Límite superior: el borde inferior de la vena ácigos en el lado derecho y el borde superior de la arteria pulmonar en el lado izquierdo. Límite inferior: la región interlobar bilateralmente
<b>11:</b> ganglios interlobares	Incluye los ganglios entre los orígenes de los bronquios lobares 11s: entre el bronquio del lóbulo superior y el bronquio intermediario en el lado derecho* 11i: entre el bronquio del lóbulo medio y el bronquio del lóbulo inferior en el lado derecho* *Anotaciones opcionales para establecer subcategorías en esta estación
<b>12:</b> ganglios lobares	Ganglios adyacentes a un bronquio lobar
<b>13:</b> ganglios segmentarios	Ganglios adyacentes a un bronquio segmentario
<b>14:</b> ganglios subsegmentarios	Ganglios adyacentes a un bronquio subsegmentario

Tabla VIII<sup>57,58</sup>

T/M	Subgrupo	N0	N1	N2	N3
T1	T1a	IA	IIA	IIIA	IIIB
	T1b	IA	IIA	IIIA	IIIB
T2	T2a	IB	IIA	IIIA	IIIB
	T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB
T3	T3 > 7 cm	IIB	IIIA	IIIA	IIIB
	T3 (invasión)	IIB	IIIA	IIIA	IIIB
	T3 (nódulo satélite)	IIB	IIIA	IIIA	IIIB
T4	T4 (invasión)	IIIA	IIIA	IIIB	IIIB
	T4 (nódulo ipsilateral)	IIIA	IIIA	IIIB	IIIB
M1	M1a (nódulo contralateral)	IV	IV	IV	IV
	M1a (diseminación pleural)	IV	IV	IV	IV
	M1b	IV	IV	IV	IV

## **2.5 Seguimiento de los pacientes en consultas externas.**

El seguimiento de todos los pacientes se ha realizado de forma periódica en las consultas externas de Cirugía Torácica de cada uno de los 3 hospitales.

Durante el primer año tras la intervención, se realiza un seguimiento estrecho de los pacientes en los meses 1º, 3º, 6º y 12º. En el 2º y 3º año, la consulta se realiza cada 6 meses y a partir del 4º año, se hace una revisión anual.

En cada revisión se realiza una anamnesis y una exploración física encaminadas a detectar posibles recurrencias y signos o síntomas del aparato cardiorrespiratorio.

Se solicitan en cada revisión de forma sistemática: hemograma, bioquímica sanguínea, coagulación, marcadores biológicos tumorales y radiografía de tórax posteroanterior y lateral. Anualmente se realiza un TAC toraco-abdominal y se solicita una fibrobroncoscopia en la revisión del primer año.

Ante la presencia de síntomas, se solicitan los estudios complementarios más adecuados (RNM, TAC craneal, ecografía, colonoscopia, PET, etc...).

## **2.6 Mortalidad y recidiva.**

Se considera que un paciente ha fallecido por causa tumoral cuando dicha situación se comprueba por autopsia o cuando el paciente fallece en el seno de una recidiva tumoral.

Si el paciente ha fallecido, se registra la fecha de la muerte. La información se obtiene del informe del hospital, cuando el paciente fallece en un centro sanitario. En caso de que el fallecimiento se haya producido en el domicilio, la información se solicita a los familiares, generalmente a través de una entrevista telefónica.

Se considera la presencia de recidiva locorregional o de metástasis cuando la evidencia de criterios clínicos, analíticos, radiológicos, histológicos o una combinación de ellos sostienen la existencia de dicha afectación secundaria.

Se recoge la fecha recidiva locorregional o a distancia. El diagnóstico de la recidiva se realiza mediante los criterios especificados en el párrafo anterior.

Si en el seguimiento de un paciente se detecta un nódulo tumoral en el pulmón, éste se considera un 2º tumor primitivo pulmonar si cumple los criterios de Martini et al.<sup>161,162</sup> que se detallan a continuación.

Se consideran tumores metacrónicos si el nuevo tumor:

1. Es de distinto tipo histológico.
2. Si es del mismo tipo histológico
  - a. Cuando el intervalo libre entre la aparición de los dos tumores sea dos años o más.
  - b. Cuando se origina desde un carcinoma in situ.
  - c. Cuando el segundo tumor se origina en un lóbulo o pulmón diferente y:
    - No hay metástasis en los ganglios linfáticos comunes a ambos tumores y
    - No hay metástasis extrapulmonares en el momento del diagnóstico.

Se consideran tumores sincrónicos si los tumores

1. Están separados físicamente y
2. El tipo histológico es:
  - a. Diferente
  - b. El mismo y si se originan en pulmón o lóbulo diferente y además:
    - no hay metástasis en los ganglios linfáticos comunes a ambos tumores y
    - no hay metástasis extrapulmonares en el momento del diagnóstico
    - o bien se originan de un carcinoma in situ



## 2.7 Datos morfológicos.

Las muestras histológicas se revisaron minuciosamente en sus respectivos centros hospitalarios. Posteriormente, todas las muestras histológicas de los tres hospitales fueron revisadas de nuevo y por más de un observador en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital General Universitario Gregorio Marañón para confirmar tipo histológico. Se utiliza la vigente clasificación de la OMS de los tumores de pulmón publicada en 2004<sup>40,41</sup>.

En este estudio sólo se han incluido los tipos histológicos que pertenecen al grupo de los carcinomas no microcíticos, ya que los microcíticos tienen un comportamiento, pronóstico y tratamiento muy diferentes.

El diagnóstico histológico se establece según el componente más diferenciado observado en el conjunto de todas las secciones estudiadas en cada una de las piezas tumorales.

A continuación se definen los criterios utilizados para definir los tipos histológicos seleccionados en el estudio:

### Carcinoma epidermoide

Según el grado de diferenciación se subdivide en tres categorías: bien, moderada y pobremente diferenciados.

Dicha división se establece según la presencia de puentes intercelulares y la formación de queratina.

Se consideran tumores bien diferenciados los que presentan abundante queratinización y numerosos puentes intercelulares. Se consideran moderadamente diferenciados si las características citadas se ven con facilidad pero no de manera predominante. El carcinoma epidermoide pobremente diferenciado tiene sólo focos aislados de diferenciación escamosa en el seno de un patrón de células marcadamente pleomórficas.

Se distinguen las siguientes variedades histológicas: papilar, de células claras, de célula pequeña y basaloide.

### Adenocarcinoma

Se trata de un grupo heterogéneo de tumores, encontrando más de un subtipo en el 80% de los casos. La clasificación vigente de la OMS lo subdivide en: mixto, acinar, tubular, sólido con producción de mucina y bronquioloalveolar.

El bronquioloalveolar se define como un tumor con un patrón de crecimiento en forma de capas y que no invade el estroma ni el intersticio. Se subdivide en: mucinoso, no mucinoso y mixto (mucinoso y no mucinoso o indeterminado). El diagnóstico de carcinoma

bronquioloalveolar requiere el estudio de todo el tumor, para poder descartar áreas de posible invasión, ya que se ha demostrado que este subtipo de adenocarcinomas tiene un mejor pronóstico<sup>82</sup>.

Dentro del adenocarcinoma se distinguen las siguientes variantes: adenocarcinoma fetal, adenocarcinoma mucinoso (coloide), cistoadenocarcinoma mucinoso, adenocarcinoma en anillo de sello y adenocarcinoma de célula clara.

Los adenocarcinomas de pequeño tamaño suelen mostrar un patrón histológico uniforme; conforme el tamaño se hace mayor, la histología muestra con más frecuencia un patrón mixto.

Atendiendo a la regularidad en la arquitectura de las glándulas, la proporción de áreas sólidas presentes, el grado de atipia citológica y la presencia y extensión de necrosis, el grado de diferenciación se establece en bien, moderada y pobremente diferenciados.

Las características específicas de cada una de ellas se detallan a continuación:

- Bien diferenciado: escasa necrosis y atipia, patrón regular estructural y de predominio glandular con pequeñas áreas de crecimiento sólido.
- Moderadamente diferenciado: moderada atipia, áreas de necrosis evidentes, estructura irregular y la existencia de numerosos focos

de áreas de crecimiento sólido entre otras áreas de predominio glandular.

- Pobrementemente diferenciado: extensas áreas de necrosis, marcada atipia citológica y pocas áreas de componente glandular, de estructura muy irregular y claro predominio de áreas sólidas.

### Carcinoma de células grandes

Es un carcinoma indiferenciado. Para su diagnóstico, es preciso el examen de todo el tumor, ya que se deben excluir las posibles áreas de diferenciación glandular o escamosa.

Dentro del carcinoma de células grandes se incluyen las siguientes variantes: carcinoma neuroendocrino de células grandes, carcinoma neuroendocrino de células grandes combinado, carcinoma basaloide, carcinoma “linfopitelioma-like”, carcinoma de células claras, carcinoma de células grandes con fenotipo rabdoide.

### Carcinoma adenoescamoso

Es un tumor mixto que presenta áreas bien definidas de diferenciación glandular y escamosa, de al menos un 10% cada una.

## **2.8 Procesamiento de las muestras.**

Como se ha comentado en el apartado 1.2 de material y métodos, en los 3 centros hospitalarios se ha seguido el mismo protocolo para el procesamiento de las muestras. Una vez estudiadas las preparaciones en los respectivos Servicios de Anatomía Patológica, los bloques tumorales en parafina de los pacientes intervenidos en el Complejo Hospitalario Xeral-Cies de Vigo y el Complejo Hospitalario Universitario de Albacete se enviaron al Departamento de Anatomía Patológica del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón”, donde se realizó un nuevo estudio con hematoxilina-eosina y el estudio inmunohistoquímico de las muestras seleccionadas para este trabajo.

En los 3 centros se incluyó en parafina la totalidad del volumen tumoral, por lo que se consiguió suficiente material para realizar los estudios con hematoxilina-eosina y los estudios inmunohistoquímicos más adecuados para confirmar el tipo histológico (queratinas, TTF-1, etc.). Además, la inclusión y el análisis de todo el tumor permite seleccionar las zonas más representativas para los estudios inmunohistoquímicos, por lo que se reduce el número de tumores diagnosticados como carcinoma indiferenciado de células grandes.

En los bloques tumorales en parafina remitidos desde los Servicios de Cirugía Torácica del Complejo Hospitalario Xeral-Cies de Vigo y del

Complejo Hospitalario Universitario de Albacete, aparte del estudio inmunohistoquímico para detectar el histoantígeno del grupo sanguíneo A, se realizó un nuevo estudio con hematoxilina-eosina para confirmar la estirpe histológica. La técnica utilizada fue la siguiente: los bloques de parafina se cortan en secciones de 3 micrómetros y se montan en portas bañados en silano, incubándose toda la noche a 60°C . Se desparafinan con xileno y se rehidratan utilizando alcoholes en los que se va disminuyendo la graduación (100%, 96% y 70% respectivamente) durante 5 minutos. Posteriormente se lavan en agua destilada durante 5 minutos. Finalmente se tiñen con hematoxilina-eosina, según el método de Harris que comprende los siguientes pasos:

- Los portas se colocan en cestillos de tinción que se introducen durante 8 ó 15 minutos en la fórmula de tinción de Harris.
- Se retira el exceso de hematoxilina con agua del grifo.
- Posteriormente se diferencia utilizando una mezcla de ácido hidrociorhídrico al 1% y etanol 70% durante 5 ó 10 segundos.
- Se aclara con agua.
- Se azulean los portas durante 30 ó 90 segundos en una solución de amoníaco débil o en una solución de carbonato de litio.
- Se lavan en agua 5 ó 10 minutos.
- Se introducen durante 15 segundos a tres minutos en la solución de eosina.

- Se deshidratan en etanol al 95% (2x2 minutos) y de 100% (2x2 segundos).
- Finalmente, se introducen en xileno y se montan.

## **2.9 Estudio inmunohistoquímico.**

Con el fin de averiguar los pacientes que expresan el histoantígeno del grupo sanguíneo A (GS-A), en todas las muestras se realizó el estudio inmunohistoquímico que se detalla a continuación. De este modo, se identificaron los pacientes con grupos sanguíneos A o AB, en los que se centrará el estudio posterior sobre valor pronóstico de la pérdida de la expresión del histoantígeno del GS-A en el carcinoma no microcítico de pulmón estadio I<sub>p</sub>.

El anticuerpo utilizado para la detección del histoantígeno del GS-A es el BG-2, que pertenece a una familia de anticuerpos monoclonales que detectan especificidades de grupo del sistema ABH. Utilizamos el clon T36, que corresponde a un tipo de IgG<sub>3</sub> que posee especificidad para las cadenas Tipo 1 y 2 del grupo sanguíneo A (DAKO. California, EEUU). Es válido para tejidos incluidos en parafina y se recomienda una dilución de 1/60 e incubación durante 20 minutos a temperatura ambiente. El control positivo recomendado es el riñón normal o el uréter.

Como sistema de desenmascaramiento de antígenos, se utilizó un tratamiento térmico que consistió en la incubación de la muestra histológica en una olla a presión en solución de citrato trisódico 0,01 M a pH 6.0.

Posteriormente, se pusieron en contacto las muestras histológicas con el anticuerpo BG-2, con la dilución previamente referida de 1/60. La técnica de inmunotinción utilizada fue el sistema ABC (Complejo Avidina-Biotina), que consta de los siguientes pasos:

- Desparafinado por inmersión sucesiva de los cortes en las siguientes soluciones: xileno, dos pasos de 10 minutos cada uno; etanol, dos pasos de 5 minutos cada uno; alcohol de 96°, un paso de 5 minutos.
- Hidratación en agua corriente.
- Bloqueo de la peroxidasa endógena mediante inmersión en una solución de agua oxigenada en metanol al 5% durante 5 minutos.
- Lavado en solución tampón (PBS) durante 4 minutos.
- Incubación con suero bloqueador durante 10 minutos.
- Incubación con el anticuerpo primario durante 1 hora a temperatura ambiente en cámara húmeda y a la dilución óptima titulada previamente.
- Lavado en tampón PBS durante 5 minutos.



- Incubación con el anticuerpo secundario biotinado durante 30 minutos.
- Lavado en tampón PBS durante 5 minutos.
- Incubación con el complejo avidina-peroxidasa-biotina durante una hora.
- Lavado en tampón PBS durante 5 minutos.
- Incubación con la solución cromógena reveladora de diaminobencidina (DAB) durante 3 minutos.
- Lavado en agua destilada.
- Ligera tinción de contraste con hematoxilina de Carazzi.
- Lavado breve en agua corriente, deshidratación, aclarado y montaje en medio permanente.

La expresión del histoantígeno del GS-A se estudió, no sólo en el tejido tumoral, sino también en los tejidos broncopulmonares peritumorales normales.

La valoración de la expresión del histoantígeno del GS-A en los tejidos broncopulmonares normales y en el tejido tumoral con este estudio inmunohistoquímico se realizó del siguiente modo:

- Análisis cualitativo: Se valora la presencia o ausencia de inmunotinción. Con este análisis se consigue identificar los pacientes que expresan el histoantígeno del GS-A en los tejidos

broncopulmonares normales y que, por tanto, pertenecen a los grupos sanguíneos A o AB.

- Análisis de expresión intracelular: En los pacientes que expresan el histoantígeno del GS-A, se valora el compartimento celular en el que la expresión es positiva. Puede ser predominantemente nuclear, citoplásmica o de membrana.
- Análisis semicuantitativo: Si la tinción es positiva, se valora la intensidad de la tinción según una escala arbitraria:
  1. Tinción leve
  2. Tinción moderada
  3. Tinción intensa

En el tejido tumoral de los pacientes con grupos sanguíneos A o AB, la expresión del histoantígeno del GS-A se consideró positiva cuando el porcentaje de células teñidas era mayor del 5%. El resultado se consideró negativo cuando las células demostraron no teñirse en relación con los adecuados controles internos (epitelio bronquial, glándulas bronquiales, endotelio vascular y eritrocitos). Cuando las células se teñían entre un 1 y un 5%, el resultado se consideró equívoco y, para el análisis estadístico, se agruparon con los casos negativos (tabla IX).

Tabla IX

% de células teñidas	Valoración de la expresión tumoral del histoantígeno A	
	Positiva	Negativa
0	No	Sí
0-5	No	Sí
>5	Sí	No

## 2.10 Herramientas para el análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante el programa informático SPSS 15.0 para Windows.

Las variables cualitativas se expresaron mediante la frecuencia y/o las proporciones.

Las variables cuantitativas se presentaron:

- Cuando seguían una distribución normal: con la media, la desviación típica (DT), el rango (R) y el intervalo de confianza al 95% para la media (IC 95%).
- Cuando seguían una distribución no normal: con la mediana, el rango (R) y el rango intercuartílico (RIC).

La normalidad de las variables cuantitativas se demostró con el test de Kolmogorov-Smirnov.

La comparación de variables cuantitativas independientes se realizó:

- Si la variable seguía una distribución normal mediante el test de la *t* de Student.
- Si la variable seguía una distribución no normal mediante la prueba de la *U* de Mann-Whitney o el test de Kruskal-Wallis.

La relación existente entre dos variables categóricas se estudió mediante el test de la Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ).

El análisis de supervivencia se realizó mediante el método del límite de producto de Kaplan-Meier. Se empleó la prueba de logaritmo de rango (logrank) para evaluar si las diferencias observadas en dos curvas de supervivencia pueden ser explicadas o no por el azar.

Para el estudio de la influencia en la supervivencia de las diferentes variables recogidas se construyó un modelo de regresión múltiple de riesgos proporcionales de Cox. De este modo se calculó el riesgo de muerte de cada variable, controlando la presencia o no del resto de variables incluidas en el modelo.

Se considera que las diferencias encontradas al establecer comparaciones con cada uno de los test estadísticos empleados alcanzaron la significación estadística cuando la probabilidad "*p*" de encontrar esas diferencias es menor de 0.05.

## **IV. RESULTADOS**

---

## 1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE NUESTRA SERIE QUIRÚRGICA

La muestra seleccionada para el estudio se compone de 402 pacientes con carcinoma no microcítico de pulmón en estadio I<sub>p</sub>, resecados completamente, que no han recibido tratamiento adyuvante o neoadyuvante y con un seguimiento postoperatorio conocido. La distribución de los pacientes por hospitales se resume en la tabla X.

Tabla X

Hospital	Nº de pacientes
HGU “Gregorio Marañón”	180
CH Xeral-Cies	135
CHU de Albacete	87
Total	402

### 1.1 Datos clínicos.

Los 402 pacientes en el momento de la intervención quirúrgica tenían edades comprendidas entre 35 y 83 años, con una media de 64 años y una desviación típica de 9. El 87% (350) eran varones y el hemitórax más frecuentemente afectado fue el derecho (61%). En relación con el hábito tabáquico, el 51% eran fumadores activos en el momento del diagnóstico, el 40% eran exfumadores y sólo un 9% no habían fumado nunca. Los datos clínicos se muestran en la tabla XI.

Tabla XI

DATOS CLÍNICOS			
	N: 402	Nº pacientes	%
Edad	≤ 70	290	72
	>70	122	28
Sexo	Varón	350	87
	Mujer	52	13
Hemitórax afecto	Derecho	245	61
	Izquierdo	157	39
Hábito tabáquico	Fumador activo	205	51
	Exfumador	161	40
	Nunca ha fumado	36	9

124 pacientes (31%) presentaban algún tipo de comorbilidad, según se definió en el apartado material y métodos. De ellos, 49 (12%) presentaban dos o más de esas patologías. En la tabla XII se resume la distribución por pacientes de las distintas patologías asociadas.

Tabla XII

COMORBILIDAD		
N: 402	Nº pacientes	%
EPOC	93	23
Diabetes Mélitus	32	8
Enfermedad cardiaca	28	7
Enfermedad vascular periférica	20	5
Insuficiencia renal	13	3

## 1.2 Datos de la intervención quirúrgica.

En la tabla XIII se resumen los datos relacionados con la intervención quirúrgica.

Tabla XIII

DATOS DE LA INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA			
	N: 402	Nº de pacientes	%
Diagnóstico preoperatorio	Sí	173	43
Localización del tumor	Lóbulo superior	277	69
	Lóbulo medio	20	5
	Lóbulo inferior	105	26
Tipo de resección	Resección atípica	71	18
	Lobectomía	269	67
	Bilobectomía	18	4
	Neumonectomía	44	11
Broncoplastia	Sí	5	1

El diagnóstico de cáncer se establece en el momento de la intervención en un 57% de los pacientes.

Las localizaciones tumorales más frecuentes han sido los lóbulos superiores. La afectación del lóbulo medio ha sido escasa (5%).



La resección pulmonar más frecuente ha sido la lobectomía (67%). La neumonectomía se realizó en el 11% de los pacientes y sólo se realizaron 5 procedimientos broncoplásticos.

### 1.3 Complicaciones postoperatorias.

Presentaron complicaciones postoperatorias 126 pacientes (31%). En la tabla XIV se exponen las principales complicaciones médicas y quirúrgicas.

Tabla XIV

COMPLICACIONES POSTOPERATORIAS		
N: 402	N	%
Fuga aérea prolongada	36	9
Neumotórax, hemotórax o empiema	22	5
Neumonía	21	5
Atelectasia	21	5
Arritmia	15	4
Insuficiencia respiratoria	14	3
Reintervención	12	3
Fístula broncopleural	5	1
Infarto de miocardio	4	1

La fuga aérea prolongada es la principal complicación postoperatoria. Un 5% de los pacientes precisaron la colocación de un drenaje torácico por neumotórax, hemotórax o empiema. Se reintervinieron 12 pacientes, 9 por hemotórax y 3 por fístula broncopleuraleal. 21 pacientes presentaron neumonías. En el 5% de los pacientes se tuvo que realizar una aspiración de secreciones con fibrobroncoscopio por atelectasia. 4 pacientes presentaron un infarto en el postoperatorio y 5 desarrollaron una fístula broncopleuraleal.

#### **1.4 Datos del tumor pulmonar.**

El tipo histológico más frecuente en nuestra serie es el carcinoma epidermoide (49%). Destaca el escaso número de carcinomas indiferenciados de células grandes (4.5%), probablemente por el exhaustivo examen de todos los bloques tumorales. Predominan los tumores pobre (38%) o moderadamente diferenciados (46%).

En 38% de los tumores están en estadio IA. La media del tamaño tumoral es de 2.8 cm. En el 75% de los tumores el tamaño tumoral está comprendido entre 2 y 3.5 cm.

En la tabla XV se resumen las principales variables relativas al tumor.

Tabla XV

DATOS DEL TUMOR PULMONAR			
	N: 402	Nº Pacientes	%
Histología	Ca. epidermoide	196	49
	Adenocarcinoma	186	46
	Ca. de células grandes	18	4.5
	Ca. adenoescamoso	2	0.5
Grado de diferenciación	Bueno	64	16
	Moderado	185	46
	Pobre	153	38
T (TNM)	T1a	93	23
	T1b	62	15
	T2a	247	62
Tamaño (cm)	Media : 2.8 R : 0-5 RIC : 2-3.5		

La distribución según el tamaño tumoral independientemente del estadio en que se encuentren los pacientes se expone en la tabla XVI.

Tabla XVI

DISTRIBUCIÓN SEGÚN EL TAMAÑO TUMORAL			
Tamaños	0-2 cm	2.1-3 cm	3.1-5 cm
Nº pacientes	144	126	132
Porcentaje	36	31	33

## 2. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO.

Tras realizar el estudio inmunohistoquímico según el procedimiento descrito en el apartado material y métodos, se identificaron 209 pacientes (52%) que expresaban el histoantígeno del grupo sanguíneo A en tejidos broncopulmonares normales y 193 (48%) que no lo expresaban. Por tanto, en nuestra serie un 52% de los pacientes tenían grupos sanguíneos A o AB y un 48% tenían grupos sanguíneos B o O.

La expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en los tejidos broncopulmonares normales y su correlación con la distribución por grupos sanguíneos se detalla en la tabla XVII.

Tabla XVII

Expresión del histoantígeno A en tejidos normales			
	Nº Pacientes	%	Grupo sanguíneo
Positiva	209	52	A o AB
Negativa	193	48	B o O
Total	402	100	A, B, AB y O

El análisis inmunohistoquímico mostró que ningún paciente con grupos sanguíneos B o O presentó expresión tumoral del histoantígeno A (expresión aberrante o incompatible del antígeno A), como se describe en la siguiente tabla de contingencia (tabla XVIII).

Tabla XVIII

		Expresión tumoral histoantígeno A		
		Positiva	Negativa	Total
Grupo sanguíneo	A o AB	126	83	209
	B o O	0	193	193
Total		126	276	402

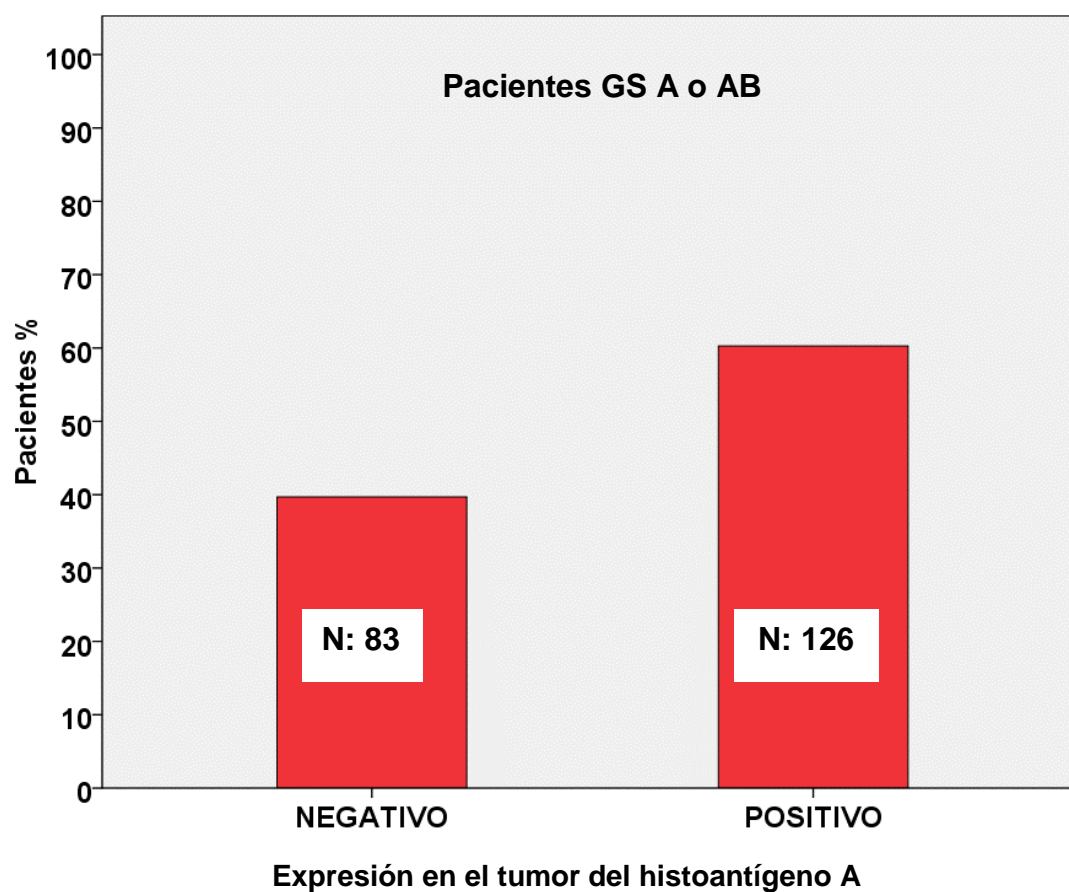
De los 209 pacientes con grupos sanguíneos A o AB, 126 (60%) mantenían la expresión en el tumor del histoantígeno A y 83 (40%) la habían perdido (tabla XIX)

Tabla XIX

Expresión tumoral del histoantígeno A		
	Nº Pacientes	Porcentaje
Positiva	126	60
Negativa	83	40
Total	209	100

La representación gráfica mediante un diagrama de barras de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A en la serie de 209 pacientes con grupos sanguíneos A o AB se muestra en la Figura 1.

Figura 1



La distribución según el porcentaje de células teñidas en el tumor se describe en la tabla XX. Como se comentó en el apartado material y métodos, se considera expresión negativa cuando el porcentaje de células teñidas es menor o igual al 5%.

Tabla XX

<b>Expresión tumoral del histoantígeno A</b>		
<b>% de células teñidas</b>	<b>Nº pacientes</b>	<b>Porcentaje</b>
0	64	31
1-5	19	9
>5	126	60
Total	209	100

La descripción de las formas de expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en los tejidos broncopulmonares normales y en los tipos histológicos más frecuentes del carcinoma no microcítico coincide con la realizada por Álvarez Fernández y Carretero Albiñana en 1991<sup>149</sup> y se resume del siguiente modo:

- Tejidos broncopulmonares normales
  - Todas las células que tapizan los bronquios, las glándulas y los sacos alveolares expresan el histoantígeno A, excepto las células serosas. El porcentaje de células positivas tiende a ser mayor en el epitelio de superficie y en las glándulas parietales de los bronquios de mayor tamaño y disminuye según se va reduciendo el calibre de la vía respiratoria.
  - Las células mucosecretoras y los neumocitos tipo II presentan un patrón de tinción principalmente citoplásmico.

- Las células de Clara y las células basales muestran un tipo de tinción fundamentalmente de membrana.
- Las células ciliadas presentan una amplia banda de tinción en su porción apical.
- Tejido tumoral
  - La expresión del histoantígeno A dentro del tumor suele ser heterogénea, con células teñidas y células sin reactividad dentro del mismo.
  - Carcinoma epidermoide
    - Bien diferenciado: patrón de tinción de membrana.
    - Pobremente diferenciado: patrón de tinción citoplasmático.
  - Adenocarcinoma
    - Bien diferenciado: patrón de tinción apical
    - Pobremente diferenciado: patrón de tinción citoplasmático.



### 3. RESULTADO DEL SEGUIMIENTO DE LOS PACIENTES.

Tras un seguimiento medio de los pacientes de 70.18 meses con una desviación típica de 45.15 meses (Rango: 1.8 – 218.07; IC para la media al 95%: 65.75- 74.61), 186 pacientes (46%) se encontraban vivos y libres de enfermedad, 18 (4%) estaban vivos pero con enfermedad metastásica, 135 (34%) habían fallecido como consecuencia de la recidiva de su enfermedad tumoral y 63 (16%) habían fallecido por causas distintas al cáncer de pulmón (tabla XXI).

Tabla XXI

ESTADO ACTUAL DE LOS PACIENTES		
	Nº de pacientes	%
Vivos y libres de enfermedad	186	46
Vivos con recidiva	18	4
Fallecidos por recidiva	135	34
Fallecidos por otras causas	63	16
TOTAL	402	100

En la tabla XXII se muestran los pacientes fallecidos por causas distintas al cáncer de pulmón. Las causas más frecuentes fueron: la aparición de otros tumores (30%), la insuficiencia respiratoria (25%) y los accidentes cerebrovasculares (16%).

Tabla XXII

FALLECIDOS POR OTRAS CAUSAS					
		Nº de pacientes	%		
Otros tumores		19	30		
Localización	N=19				
- Riñón	6				
- Vejiga	3				
- Leucemia	2				
- Páncreas	1				
- Linfoma	1				
- Laringe	1				
- Gástrico	1				
- Esófago	1				
- Colon	1				
- Colangiocarcinoma	1				
- 2º primario pulmonar	1				
Insuficiencia respiratoria				16	25
Accidente cerebrovascular				10	16
Cardiopatía isquémica		6	9		
Insuficiencia cardíaca congestiva		5	8		
Postoperatorio de otro tumor		3	4		
Tromboembolismo pulmonar		1	2		
Insuficiencia renal		1	2		
Encefalopatía hepática		1	2		
Accidente de tráfico		1	2		
Total		63	100		

En la tabla XXIII se exponen las localizaciones de las recidivas locorregionales y a distancia de los pacientes fallecidos. En algunos pacientes se identificó más de una localización de recidiva, por lo que este número es mayor que el de pacientes fallecidos por esta causa.

Tabla XXIII

LOCALIZACIÓN DE LAS RECIDIVAS		
	Nº de pacientes	%
Pulmón	56	34
Hueso	24	15
Adenopatías mediastínicas	23	14
Cerebro	19	12
Hígado	17	10
Suprarrenales	15	9
Pared torácica	4	2
Riñón	3	2
Bazo	2	1
Pericardio	1	1
Total	164	100

#### 4. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA GLOBAL

Se analiza la supervivencia global de nuestra serie de 402 pacientes y los diferentes factores clínicos y biológicos que pueden afectar a la misma:

- La edad
  - Pacientes edad menor o igual a 70 años.
  - Pacientes mayores de 70 años.
- El sexo
- El tipo histológico tumoral
  - Carcinoma epidermoide.
  - Adenocarcinoma.
  - Carcinoma de células grandes. Debido a que en nuestra serie sólo había 2 carcinomas adenoescamosos, éstos se agruparon para el análisis de supervivencia en función del tipo histológico junto con los carcinomas de células grandes.
- Tipo de resección
  - Resección atípica.
  - Lobectomía. Para su análisis, se agrupan los 269 pacientes a los que se les realizó una lobectomía y los 18 a los que se les practicó una bilobectomía.
  - Neumonectomía.
- Estadio tumoral

- IA
- IB
- Descriptor T. Como en el estadio IA existen dos descriptores T, también se estudia la supervivencia en función de los diferentes subgrupos que define el descriptor T.
  - T1a
  - T1b
  - T2a
- Tamaño tumoral. Independientemente del estadio, se analiza la supervivencia en función del tamaño tumoral (no se tiene en cuenta la invasión de la pleura visceral o la neumonitis obstructiva que no afecta a la totalidad del pulmón).
  - Tumores con tamaños comprendidos entre 0 y 2 cm.
  - Tumores con tamaños comprendidos entre 2.1 y 3 cm.
  - Tumores con tamaños comprendidos entre 3.1 y 5 cm.
- Grupo sanguíneo. El análisis inmunohistoquímico nos permitió dividir a los pacientes en dos grupos según su grupo sanguíneo.
  - Grupos A o AB: expresan el histoantígeno A en los tejidos broncopulmonares normales.
  - Grupos B o O: no expresan el histoantígeno A en los tejidos broncopulmonares normales.

En la tabla XXIV se resumen los hallazgos del análisis estadístico de la supervivencia global y en función de las variables descritas previamente.

Tabla XXIV

SUPERVIVENCIA (Sv) A LOS 5 AÑOS			
	N: 402	%	<i>p</i>
Sv global	---	68	---
Sv / Edad	≤ 70 años	71	0.039
	> 70 años	62	
Sv / Sexo	Varón	66	0.027
	Mujer	72	
Sv / Histología	Ca. epidermoide	69	0.83
	Adenocarcinoma	66	
	Ca. Células grandes	70	
Sv / Tipo de resección	Resección atípica	65	0.94
	Lobectomía	68	
	Neumonectomía	68	
Sv / Estadio	IA	76	0.001
	IB	62	
Sv / Descriptor T	T1a	73	0.005
	T1b	69	
	T2a	62	
Sv / Tamaño tumoral	0-2 cm	73	0.027
	2.1-3 cm	70	
	3.1-5 cm	59	
Sv / Grupo sanguíneo	A y AB	68	0.96
	B y O	68	

La supervivencia a los 5 años de la serie es del 68%.

El sexo masculino y la edad mayor de 70 años tienen una influencia pronóstica negativa.

Además, el pronóstico empeora a medida que aumenta el estadio, el descriptor T y el tamaño tumoral.

No encontramos diferencias estadísticamente significativas al comparar la supervivencia en función de tipo histológico, el tipo de resección practicada y el grupo sanguíneo de los pacientes.

#### **4.1 Curvas de supervivencia.**

Las siguientes figuras muestran las curvas de supervivencia de los pacientes en función de las variables previamente analizadas. Además, en las figuras también se reflejan las diferencias estadísticas encontradas entre ellas.

Figura 2: Curvas de supervivencia de los pacientes en función de su edad y la diferencia estadística encontrada.

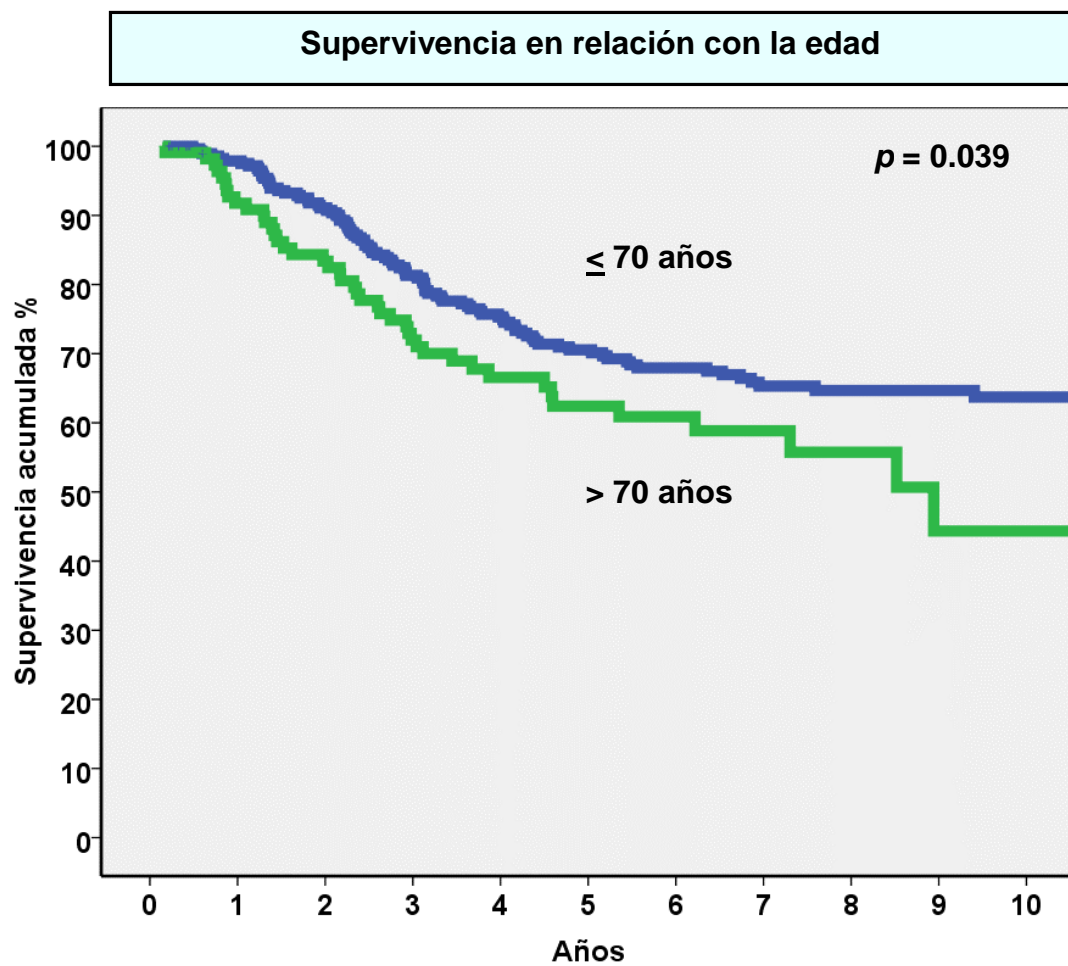




Figura 3: Curvas de supervivencia en función del sexo y la diferencia estadística encontrada.

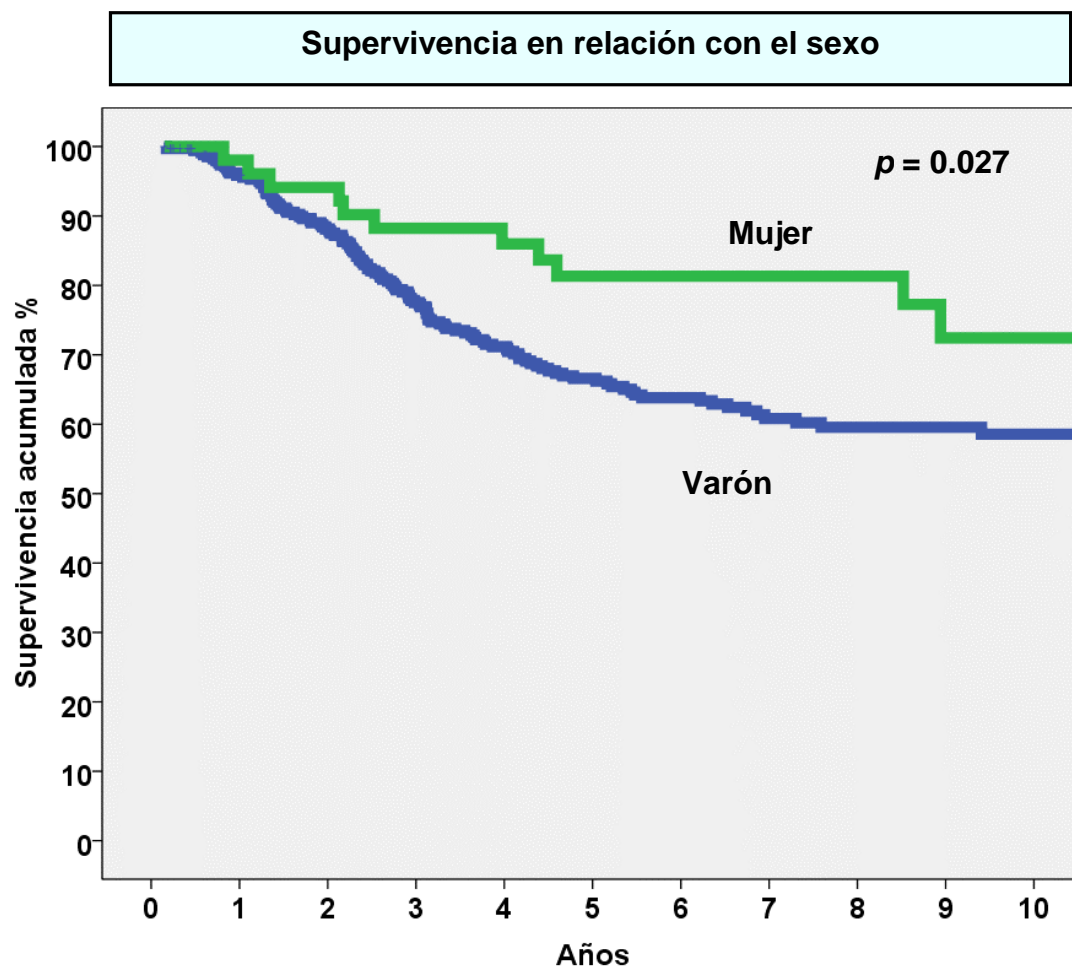


Figura 4: Curvas de supervivencia en función del tipo histológico y la diferencia estadística encontrada.

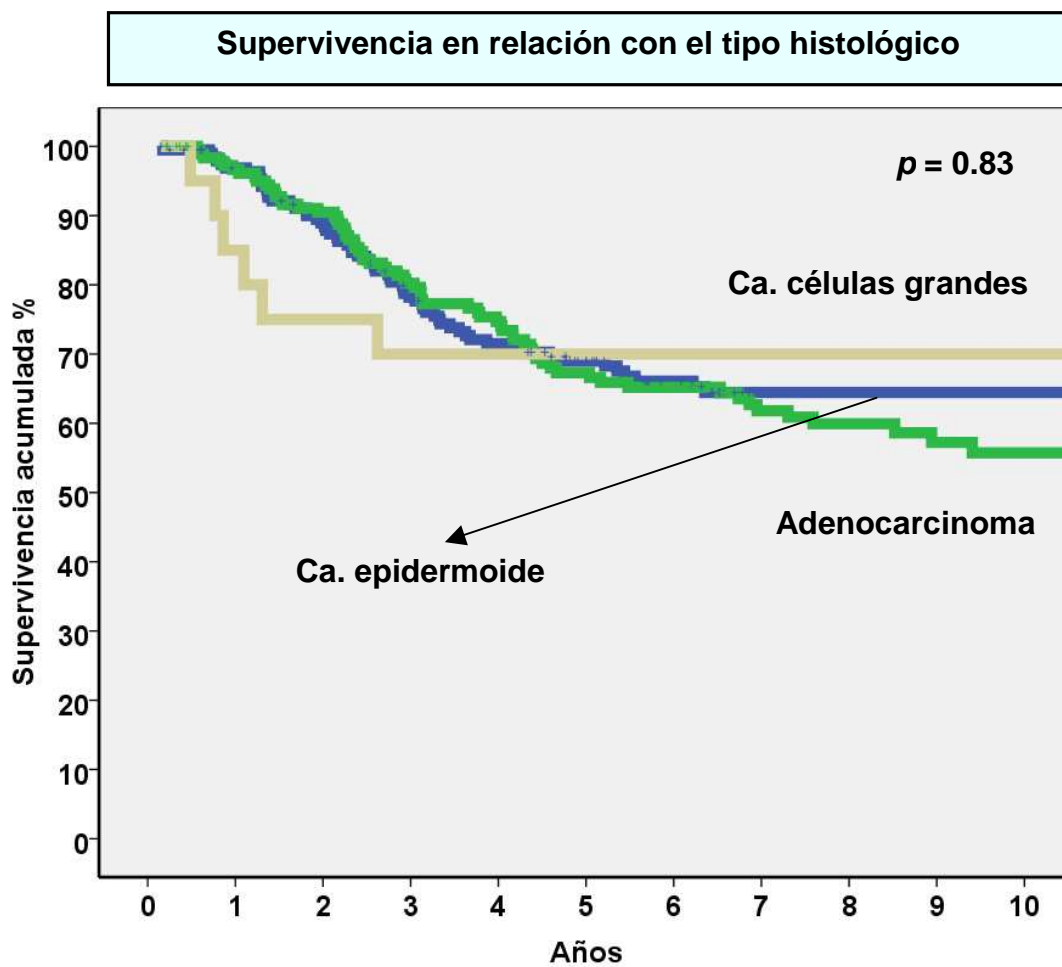


Figura 5: Curvas de supervivencia en función del tipo de resección y la diferencia estadística encontrada.

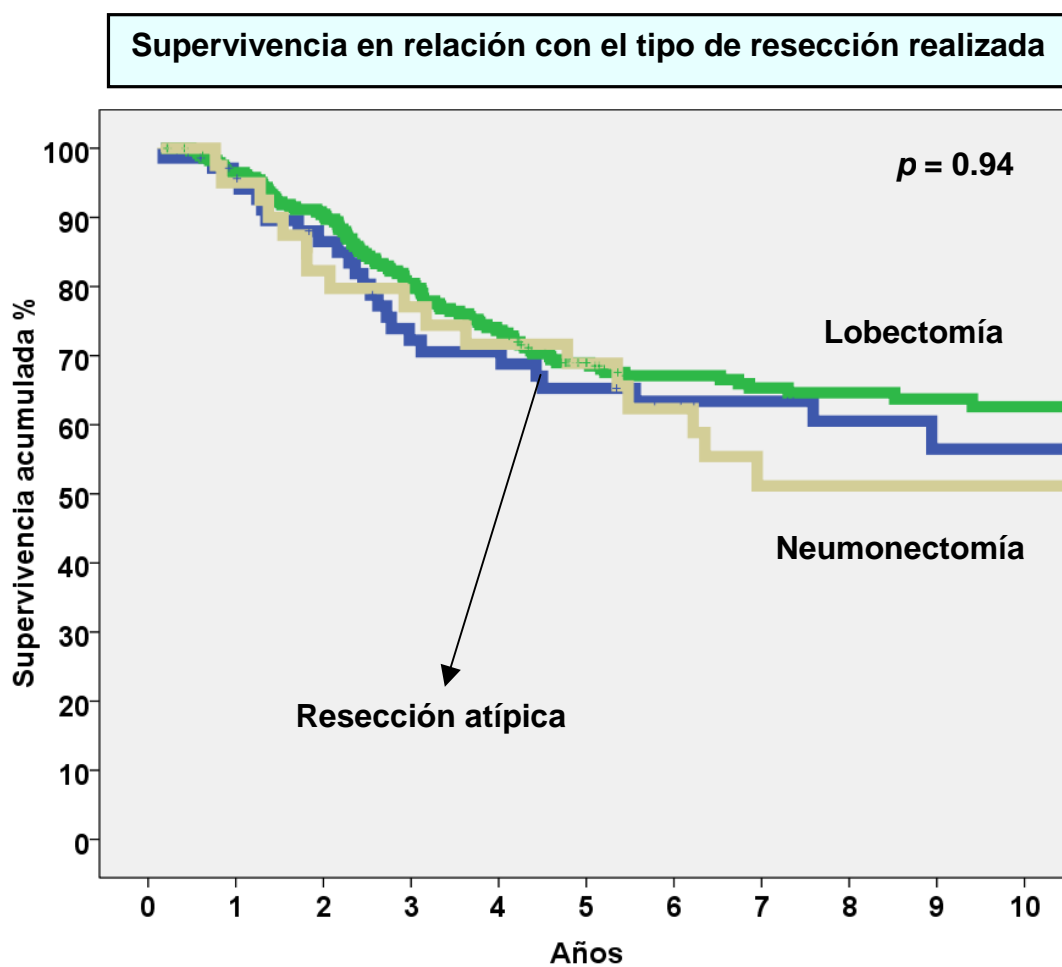


Figura 6: Curvas de supervivencia en función del estadio y la diferencia estadística encontrada.

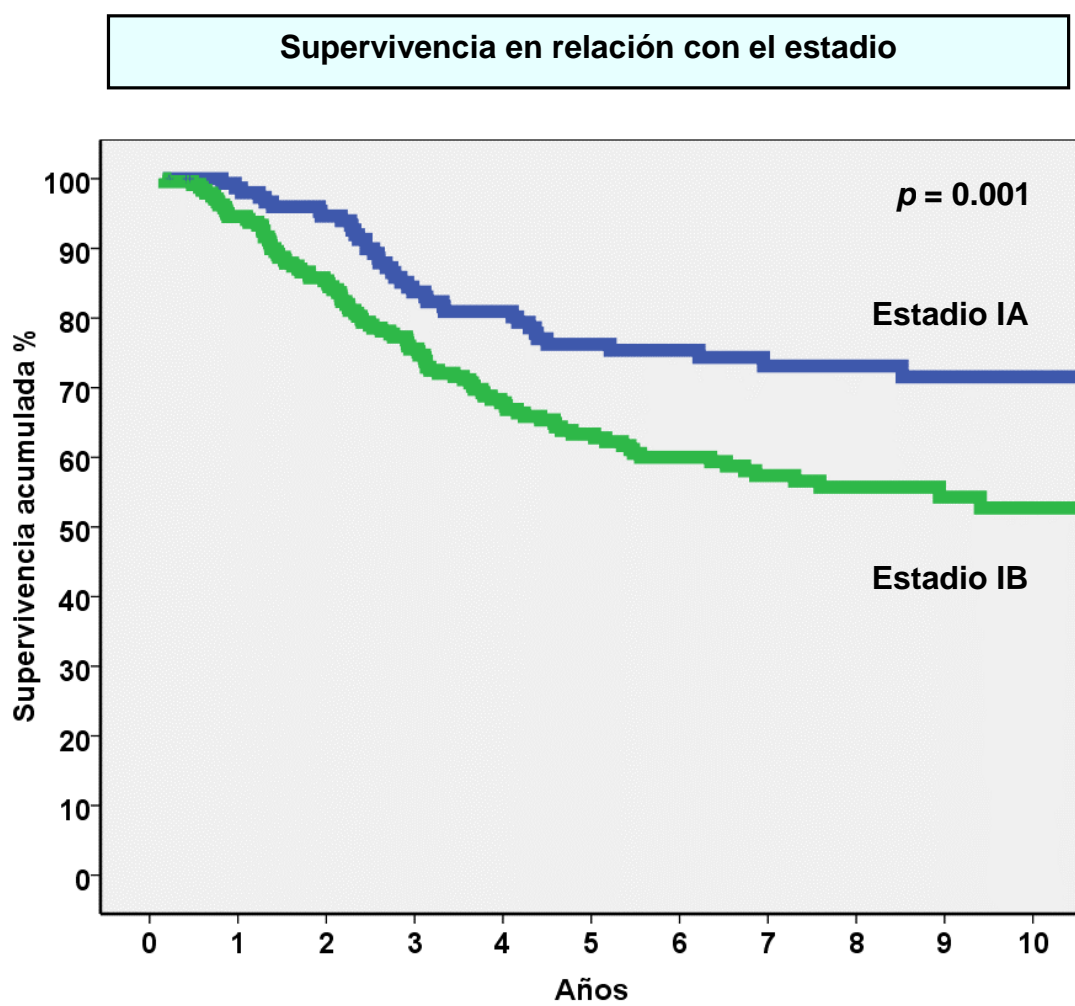


Figura 7: Curvas de supervivencia en función del descriptor T y la diferencia estadística encontrada.

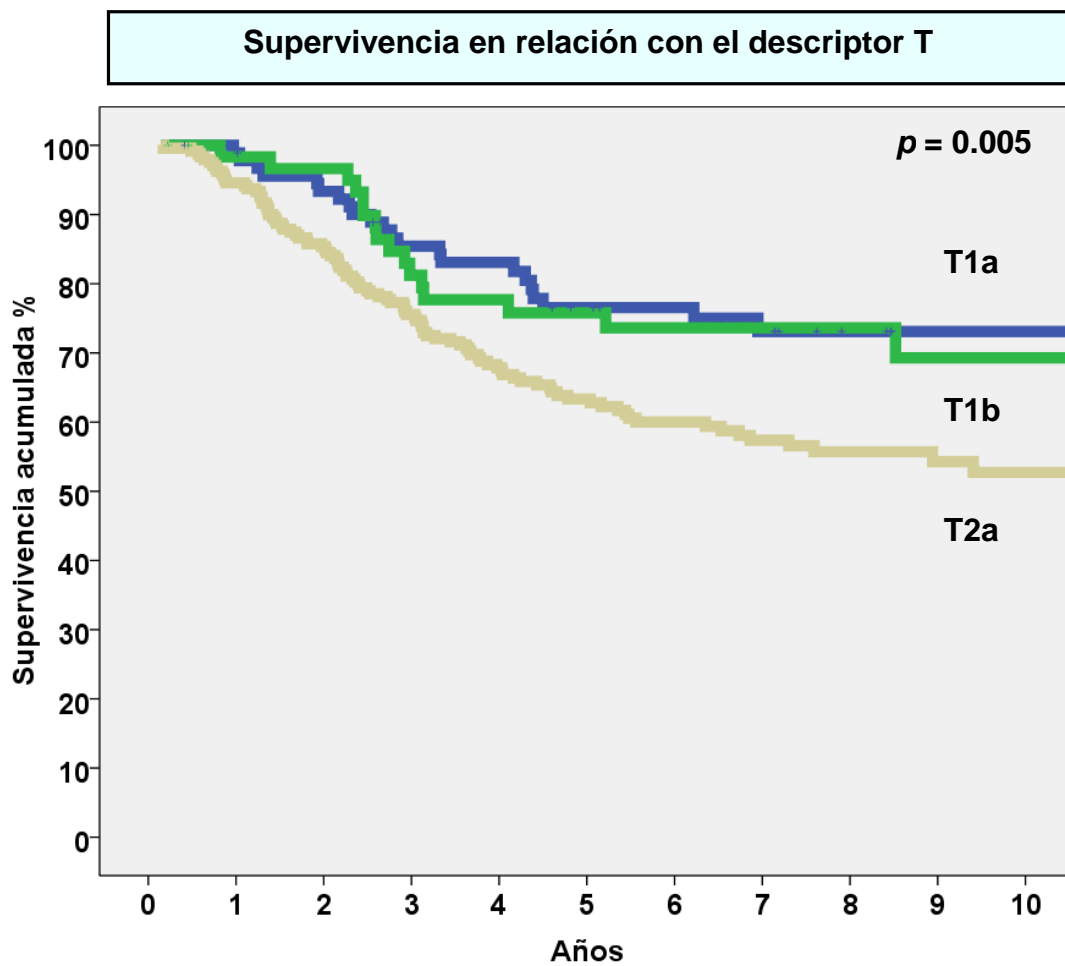


Figura 8: Curvas de supervivencia en función del tamaño tumoral y la diferencia estadística encontrada.

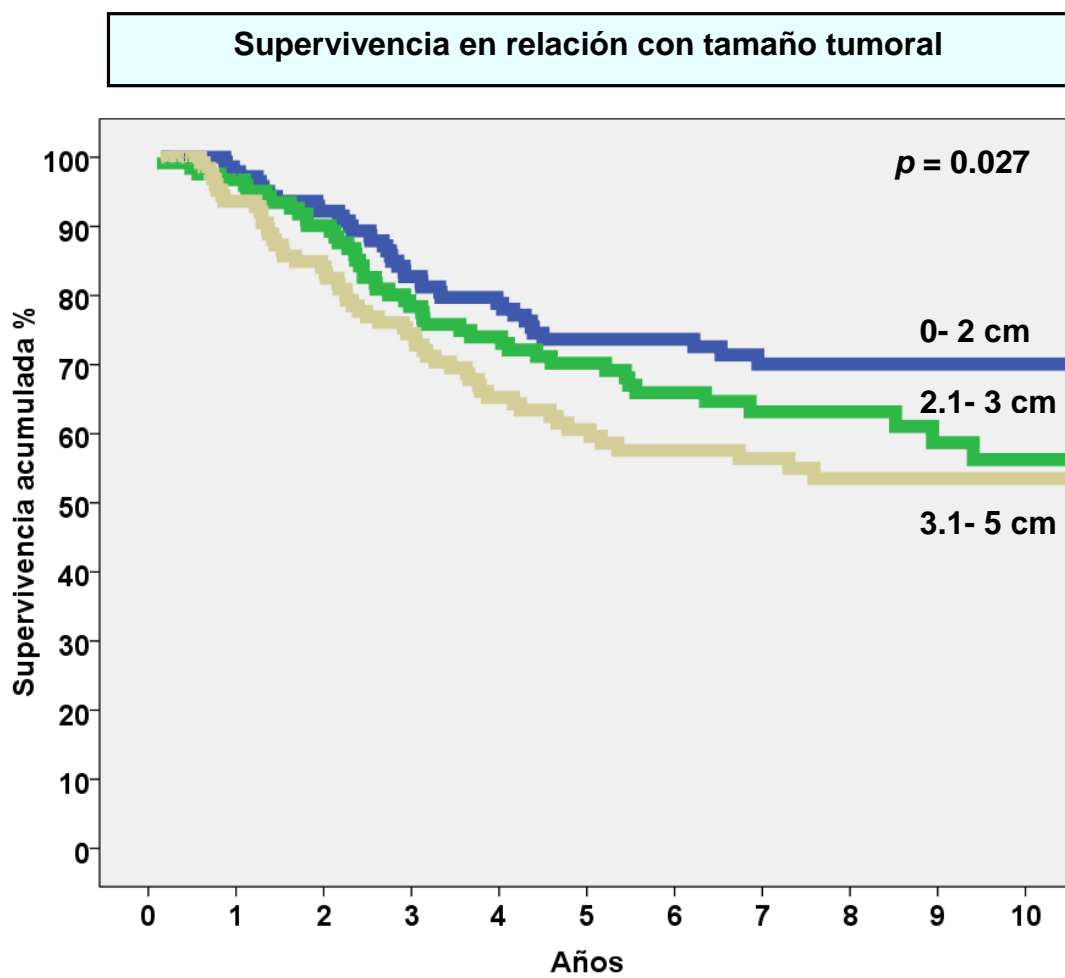
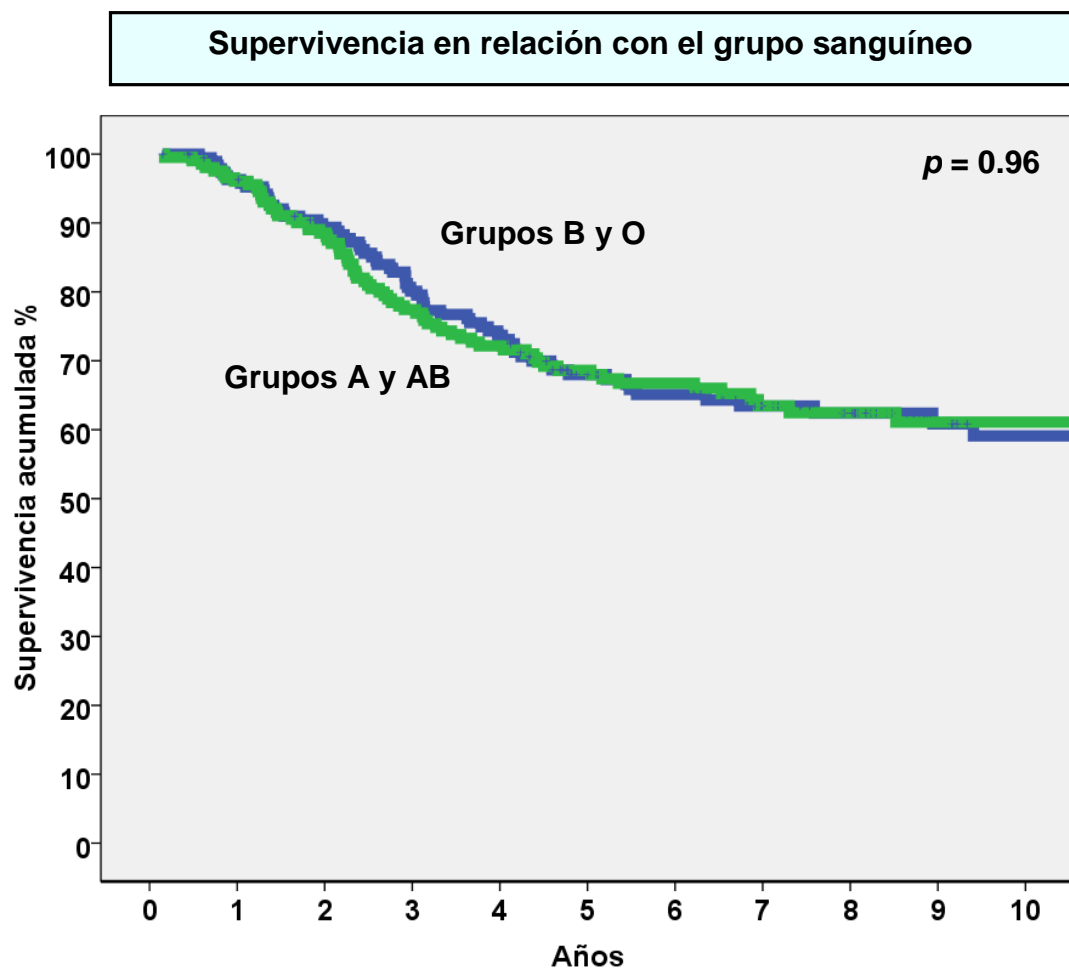


Figura 9: Curvas de supervivencia en función del grupo sanguíneo y la diferencia estadística encontrada.



## 4.2 Análisis multivariable

Se construyó un modelo de análisis multivariable para identificar el efecto sobre la supervivencia de cada una de las variables que pueden influir en el pronóstico de los pacientes. Las variables que se incluyeron en el análisis fueron: edad, sexo, tipo histológico, tipo de resección quirúrgica y estadio.

El resultado del análisis mediante el modelo de riesgos proporcionales de Cox se describe en la tabla XXV.

Tabla XXV

ANÁLISIS MULTIVARIABLE DE SUPERVIVENCIA							
	$\beta$	EE	Wald	$p$	HR	IC 95% de HR	
						Superior	Inferior
Edad	0.022	0.011	4.385	0.036	1.023	1.001	1.044
Sexo	0.767	0.325	5.584	0.018	2.154	1.140	4.069
Tipo histológico	---	---	2.955	0.228	---	---	---
*ca. epidermoide vs adenocarcinoma	0.286	0.430	0.442	0.506	1.331	0.573	3.093
*ca. epidermoide vs ca. células grandes	0.033	0.431	0.006	0.939	0.968	0.416	2.254
Tipo de resección	---	---	1.157	0.561	---	---	---
*resección atípica vs lobectomía	0.132	0.335	0.156	0.693	0.876	0.454	1.690
*resección atípica vs neumonectomía	0.266	0.273	0.945	0.331	0.767	0.449	1.310
Estadio (IA y IB)	0.596	0.195	9.352	0.002	1.814	1.238	2.658



El análisis multivariable muestra que la edad, el sexo y el estadio tumoral son factores pronósticos independientes.

El análisis, ajustado por el resto de variables que se introdujeron en el modelo, mostró que los pacientes en estadio IB fallecen 1.81 veces más que los pacientes en estadio IA.

El análisis también mostró que los varones fallecen 3.25 veces más que las mujeres y que los pacientes mayores de 70 años fallecen 1.02 veces más que los pacientes de menor edad.

## 5. ANÁLISIS DE LA SERIE DE PACIENTES CON GRUPOS SANGUÍNEOS A O AB.

De la serie general de 402 pacientes con carcinoma no microcítico de pulmón en estadio I<sub>p</sub>, se seleccionaron los 209 pacientes con grupos sanguíneos A o AB (GS A o AB) para analizar el valor pronóstico de la pérdida de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A.

### 5.1 Análisis descriptivo.

#### 5.1.1 Datos clínicos.

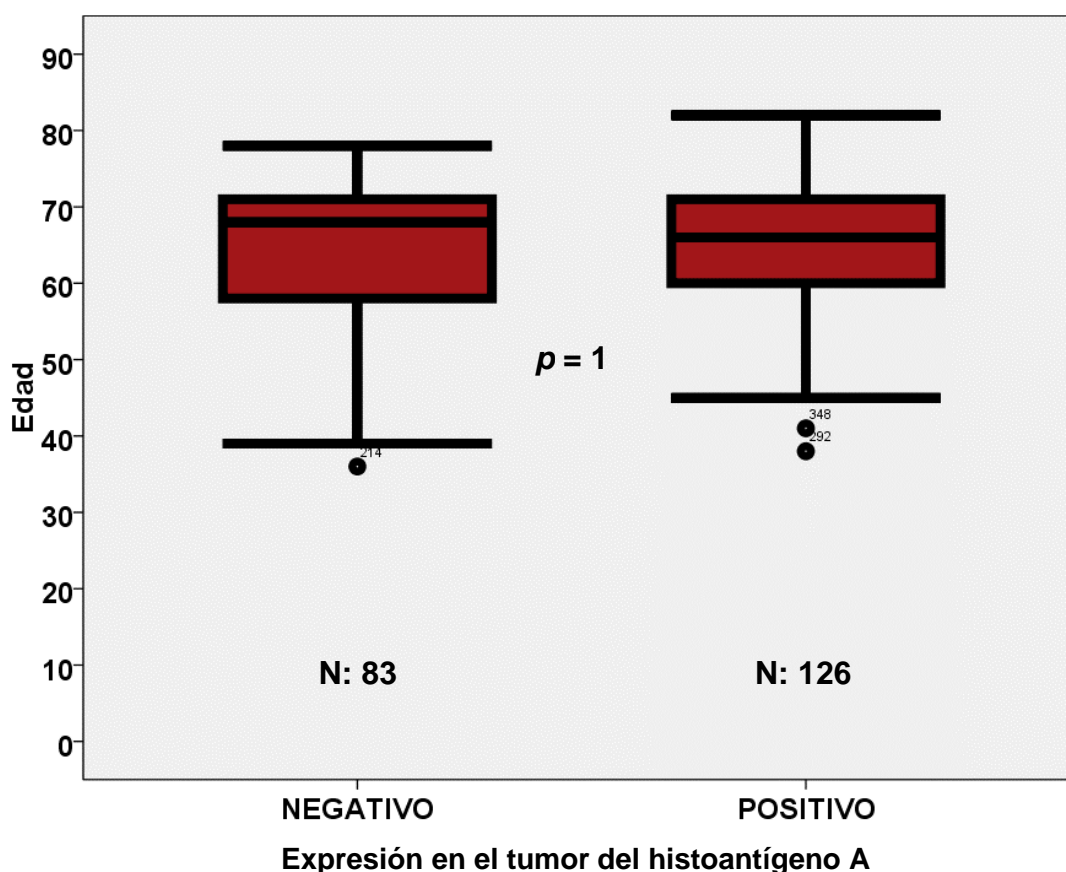
En la tabla XXVI se muestran las principales características clínicas de los pacientes con grupos sanguíneos A o AB

Tabla XXVI

DATOS CLÍNICOS (GS A o AB)			
	N: 209	Nº pacientes	%
Edad	≤ 70	151	72
	>70	58	28
Sexo	Varón	182	87
	Mujer	27	13
Hemitórax afecto	Derecho	123	59
	Izquierdo	86	41
Hábito tabáquico	Fumador activo	111	53
	Exfumador	81	39
	Nunca ha fumado	17	8

La edad media de los pacientes que habían perdido la expresión tumoral del histoantígeno A fue de 64 años y la mediana de 68. En los pacientes que mantenían la expresión, la edad media fue también de 64 años y la mediana de 66 años, como se expresa gráficamente en la figura 10.

Figura 10



En la tabla XXVII se describen las principales patologías asociadas de los pacientes con GS A o AB.

Tabla XXVII

COMORBILIDAD (GS A o AB)		
	N: 209	Nº pacientes %
EPOC	54	26
Enfermedad cardiaca	17	8
Enfermedad vascular periférica	15	7
Diabetes Mélitus	13	6
Insuficiencia renal	8	4

### 5.1.2 Datos de la intervención quirúrgica.

En la tabla XXVIII se resumen los datos principales relativos a la intervención quirúrgica de los pacientes con grupos sanguíneos A o AB.

Tabla XXVIII

DATOS DE LA INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA (GS A o AB)			
	N: 209	Nº de pacientes	%
Diagnóstico preoperatorio	Sí	96	46
Localización del tumor	Lóbulo superior	148	71
	Lóbulo medio	12	6
	Lóbulo inferior	48	23
Tipo de resección	Resección atípica	40	19
	Lobectomía	135	65
	Bilobectomía	10	5
	Neumonectomía	24	11
Broncoplastia	Sí	3	1

### 5.1.3 Complicaciones.

En la tabla XXIX se muestran las complicaciones registradas de los pacientes con grupos sanguíneos A o AB.

Tabla XXIX

<b>COMPLICACIONES POSTOPERATORIAS (GS A o AB)</b>		
N: 209	N	%
Fuga aérea prolongada	21	10
Atelectasia	12	6
Neumotórax, hemotórax o empiema	10	5
Neumonía	8	4
Insuficiencia respiratoria	8	4
Arritmia	6	3
Reintervención	6	3
Fístula broncopleuraleal	2	1
Infarto de miocardio	2	1

#### 5.1.4 Datos del tumor pulmonar.

En la tabla XXX se describen los datos principales relativos al tumor pulmonar de los pacientes con grupos sanguíneos A o AB.

Tabla XXX

DATOS DEL TUMOR PULMONAR (GS A o AB)			
	N: 209	Nº Pacientes	%
Histología	Ca. epidermoide	100	48
	Adenocarcinoma	102	49
	Ca. de células grandes	7	3
Grado de diferenciación	Bueno	38	18
	Moderado	94	45
	Pobre	77	37
T (TNM)	T1a	47	23
	T1b	30	14
	T2a	132	63

En la tabla XXXI se detalla la distribución por tamaños de los pacientes con grupos sanguíneos A o AB.

Tabla XXXI

DISTRIBUCIÓN SEGÚN EL TAMAÑO TUMORAL DE LOS PACIENTES CON GS A o AB			
Tamaños	0-2 cm	2.1-3 cm	3.1-5 cm
Nº pacientes	75	59	75
Porcentaje	36	28	36

## 5.2 Estado de supervivencia de los pacientes con grupos sanguíneos A o AB.

Después de 70 meses de seguimiento medio de todos los pacientes intervenidos por carcinoma no microcítico de pulmón en estadio I<sub>p</sub>, los 209 pacientes con grupos sanguíneos A o AB tenían el estado de supervivencia que se resume en la tabla XXXII.

Tabla XXXII

ESTADO ACTUAL DE LOS PACIENTES (GS A o AB)		
	Nº de pacientes	%
Vivos y libres de enfermedad	98	47
Vivos con recidiva	8	4
Fallecidos por recidiva	71	34
Fallecidos por otras causas	32	15
TOTAL	209	100

## 5.3 Comparación de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A en relación con otras variable pronósticas.

En las siguientes tablas de contingencia se compara con otras variable pronósticas, la expresión tumoral del histoantígeno A de los 209 pacientes con grupos sanguíneos A o AB y carcinoma no microcítico de pulmón en estadio I<sub>p</sub>.

- Tabla XXXIII: Expresión del histoantígeno A en función de la edad.

Tabla XXXIII

		Expresión tumoral histoantígeno A		
		Negativa	Positiva	Total
Edad	≤70 años	59	92	151
	>70 años	24	34	58
Total		83	126	209

$$p = 0.76$$

- Tabla XXXIV: Expresión del histoantígeno A en función del sexo.

Tabla XXXIV

		Expresión tumoral histoantígeno A		
		Negativa	Positiva	Total
Sexo	Varón	73	109	182
	Mujer	10	17	27
Total		83	126	209

$$p = 0.76$$



- Tabla XXXV: Expresión del histoantígeno A en función del tipo histológico.

Tabla XXXV

		Expresión tumoral del histoantígeno A		Total
		Negativa	Positiva	
Tipo Histológico	Ca. epidermoide	45	55	100
	Adenocarcinoma	36	66	102
	Ca. células grandes	2	5	7
Total		83	126	209

$$p = 0.3$$

- Tabla XXXVI: Expresión del histoantígeno A en función del tipo de resección realizada.

Tabla XXXVI

		Expresión tumoral del histoantígeno A		Total
		Negativa	Positiva	
Tipo de resección	Resección atípica	20	20	40
	Lobectomía	51	94	145
	Neumonectomía	12	12	24
Total		83	126	209

$$p = 0.13$$

- Tabla XXXVII: Expresión del histoantígeno A en función del estadio (IA y IB).

Tabla XXXVII

		Expresión tumoral histoantígeno A		
		Negativa	Positiva	Total
Estadio	IA	31	46	77
	IB	52	80	132
	Total	83	126	209

 $p = 0.9$ 

- Tabla XXXVIII: Expresión del histoantígeno A en función del descriptor T.

Tabla XXXVIII

		Expresión tumoral del histoantígeno A		
		Negativa	Positiva	Total
Descriptor T	T1a	19	28	47
	T1b	12	18	30
	T2a	52	80	132
	Total	83	126	209

 $p = 0.99$

- Tabla XXXIX: Expresión del histoantígeno A en función del tamaño tumoral.

Tabla XXXIX

		Expresión tumoral del histoantígeno A		Total
		Negativa	Positiva	
Tamaño tumoral	0-2 cm	31	44	75
	2.1-3 cm	25	34	59
	3.1-5 cm	27	48	75
Total		83	126	209

$$p = 0.7$$

En ninguna de las tablas de contingencia anteriores se alcanza la significación estadística. Esto implica que la distribución de los pacientes en función de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A es homogénea y no se ve influenciada por la edad, el sexo, el tipo histológico, el tipo de resección, el estadio, el descriptor T o el tamaño tumoral.

#### 5.4 Análisis de supervivencia.

Para estudiar la influencia pronóstica de la pérdida de la expresión tumoral del histoantígeno A, se analizó la supervivencia global de la serie de 209 pacientes con grupos sanguíneos A o AB.

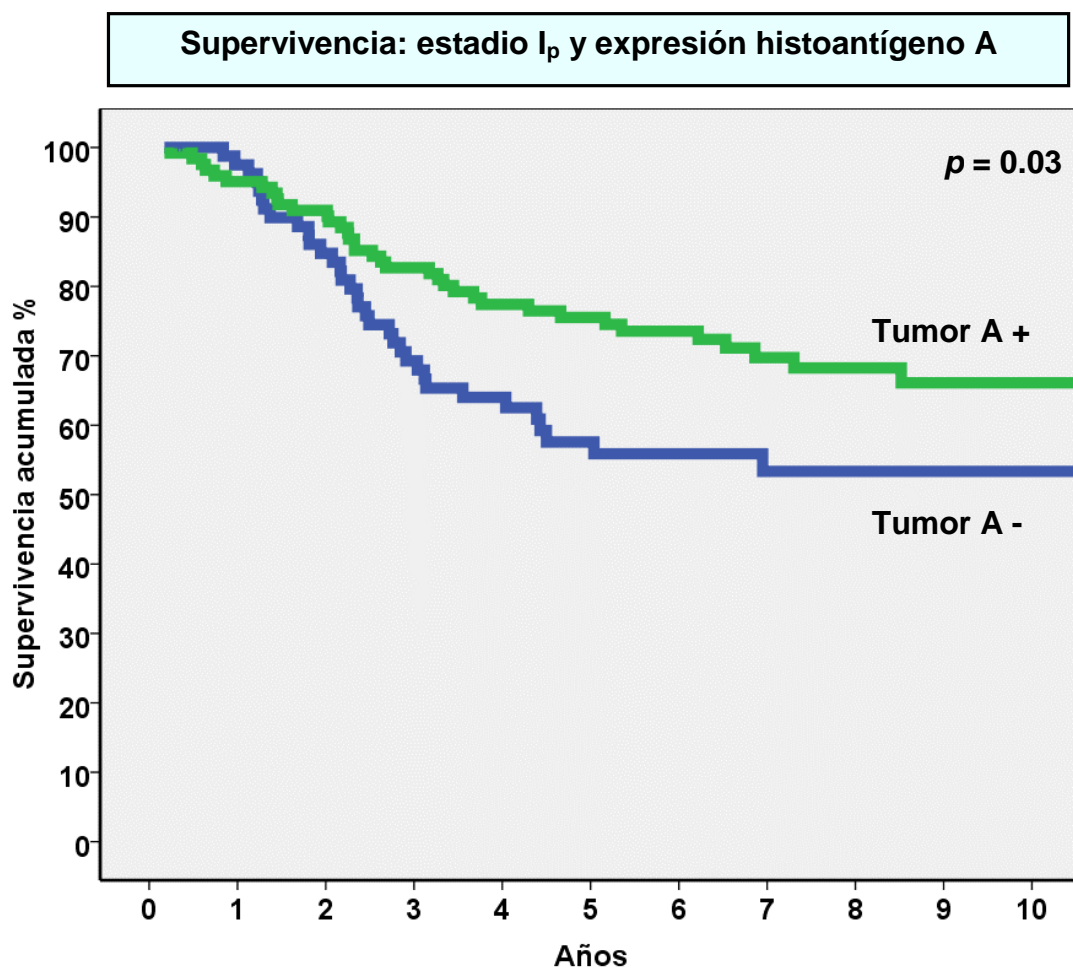
La supervivencia a los 5 años de los pacientes con grupos sanguíneos A o AB fue del 77.4%.

La supervivencia a los 5 años de los pacientes con grupos sanguíneos A o AB y carcinoma no microcítico de pulmón en estadio I<sub>p</sub> que mantenían la expresión en el tumor del histoantígeno A fue del 73%, frente a una supervivencia del 53% en los pacientes que habían perdido la expresión del mismo. Esta diferencia es estadísticamente significativa ( $p = 0.03$ ), por lo que podemos concluir que la pérdida de la expresión en el tumor del histoantígeno del grupo sanguíneo A es un factor pronóstico desfavorable. Estos hallazgos se resumen en la tabla XL y en la figura 11.

Tabla XL

SUPERVIVENCIA (Sv) GLOBAL A LOS 5 AÑOS			
	N: 209	%	$p$
Sv / expresión histoantígeno A	Negativa	53	0.03
	Positiva	73	

Figura 11: Curvas de supervivencia de los pacientes en estadio I<sub>p</sub> en función de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A y la diferencia estadística encontrada.



También se analizó la supervivencia en función de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A estratificando por estadios (tabla XLI).

Tabla XLI

Supervivencia a los 5 años				
		Expresión tumoral del histoantígeno A		
		Negativa	Positiva	<i>p</i>
Estadio	IA	63%	86%	0.03
	IB	51%	60%	

Globalmente, los pacientes que mantenían la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A tenían una mejor supervivencia ( $p = 0.03$ ).

Al realizar las curvas de supervivencia de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A estratificando en función del estadio, tanto en el estadio IA como en el IB se apreció una influencia clínica relevante, pero sólo se alcanzó la significación estadística en el estadio IA, probablemente debido a la influencia que tienen sobre la " $p$ " las múltiples subdivisiones de la muestra (figuras 12 y 13).

Figura 12: Curvas de supervivencia de los pacientes en estadio IA en función de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A y la diferencia estadística encontrada.

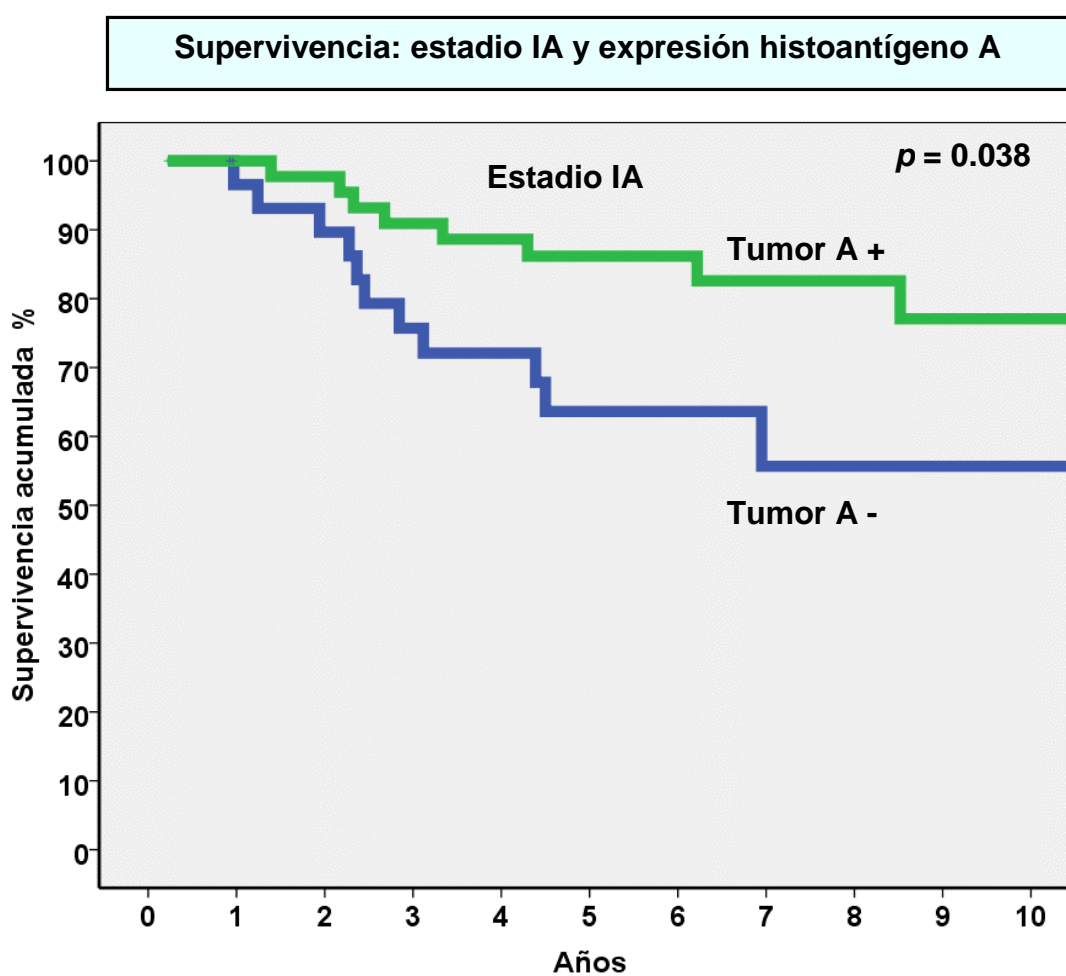
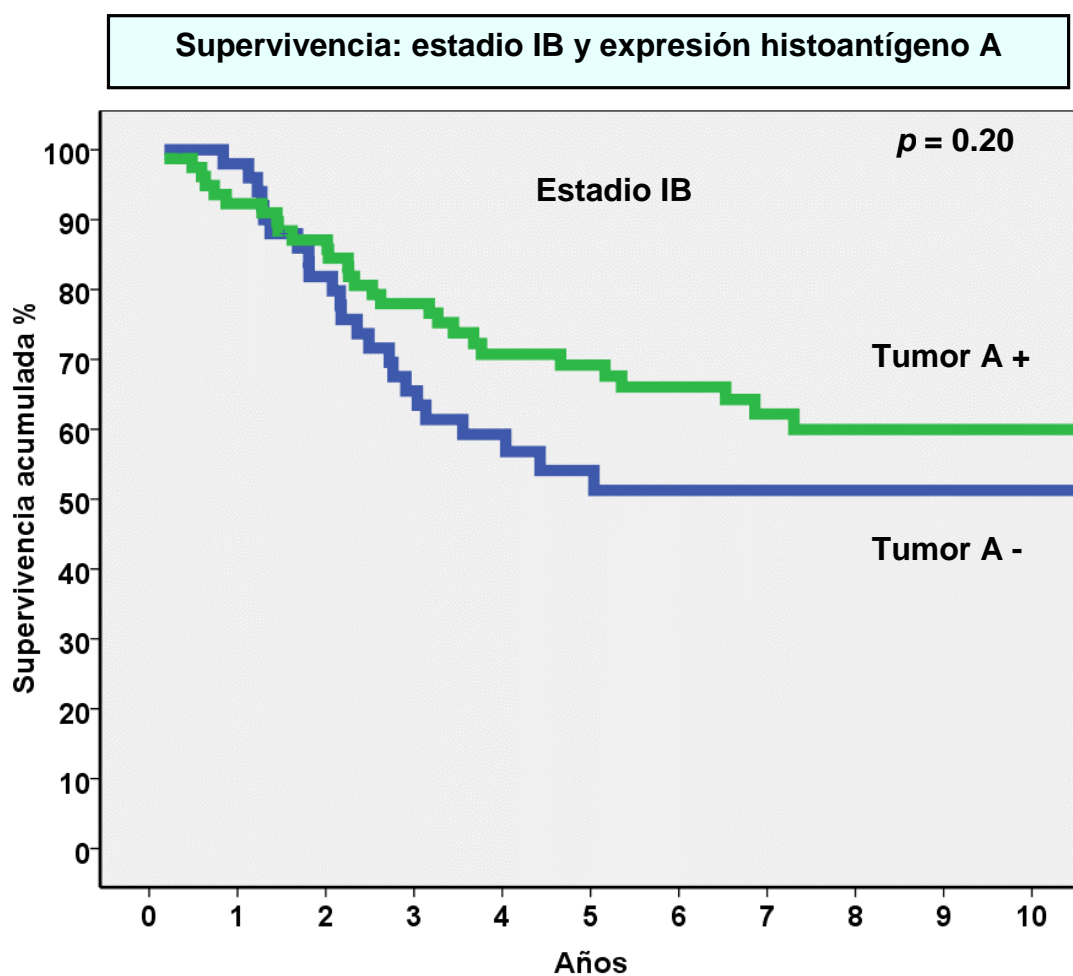


Figura 13: Curvas de supervivencia de los pacientes en estadio IB en función de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A y la diferencia estadística encontrada.





Además, se analizó la supervivencia en función de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A estratificando según el descriptor T (tabla XLII).

Tabla XLII

Supervivencia a los 5 años				
		Expresión tumoral del histoantígeno A		
		Negativa	Positiva	<i>p</i>
Descriptor T	T1a	53%	76%	0.033
	T1b	63%	75%	
	T2a	51%	60%	

En este caso también, los pacientes que mantenían la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A, globalmente tenían una mejor supervivencia ( $p = 0.033$ ).

Al realizar las curvas de supervivencia en función de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A estratificando según descriptor T, se apreció una clara tendencia clínica en los tres descriptores (T1a, T1b y T2a), pero no se alcanzó la significación estadística en ninguno de ellos por el motivo descrito previamente cuando se estudió la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A estratificando por estadios (Figuras 14, 15 y 16).

Figura 14: Curvas de supervivencia de los pacientes con descriptor T1a en función de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A y la diferencia estadística encontrada.

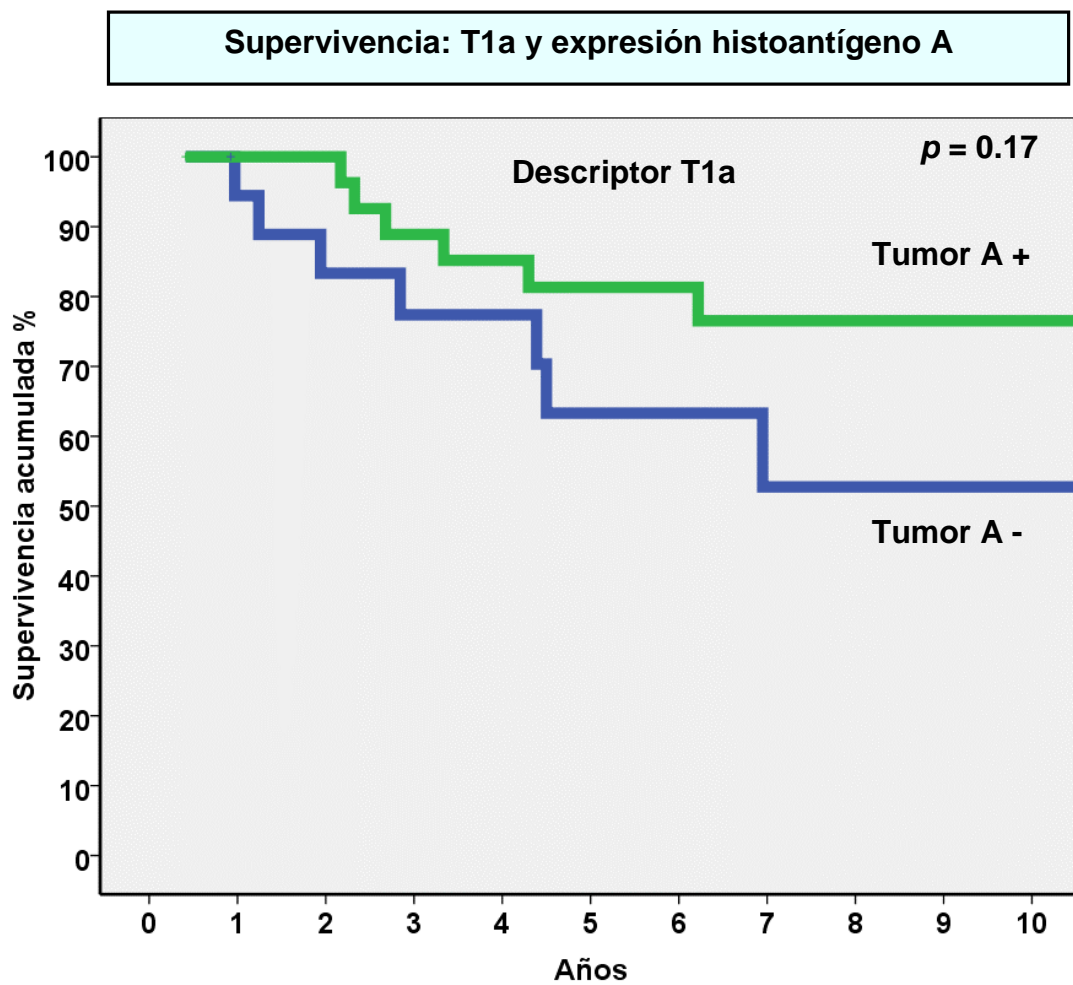


Figura 15: Curvas de supervivencia de los pacientes con descriptor T1b en función de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A y la diferencia estadística encontrada.

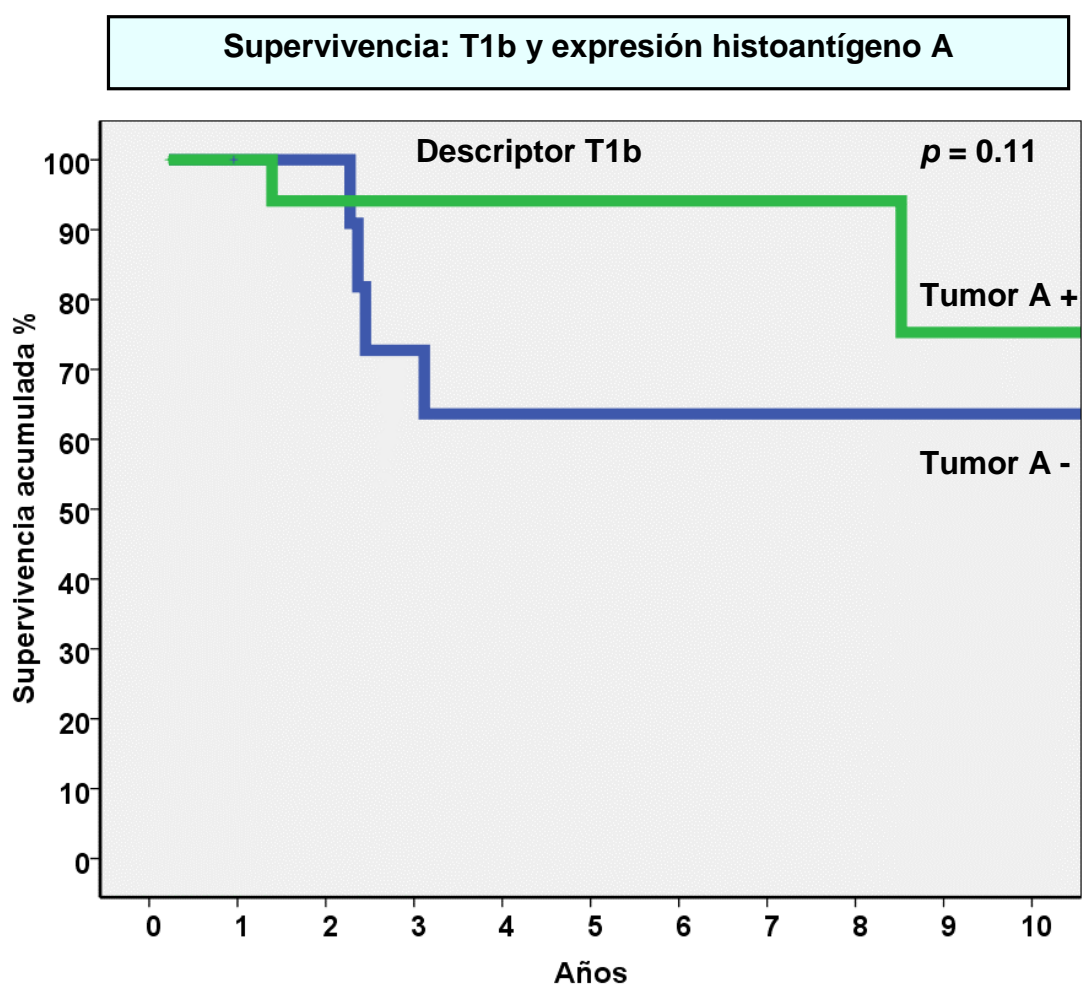
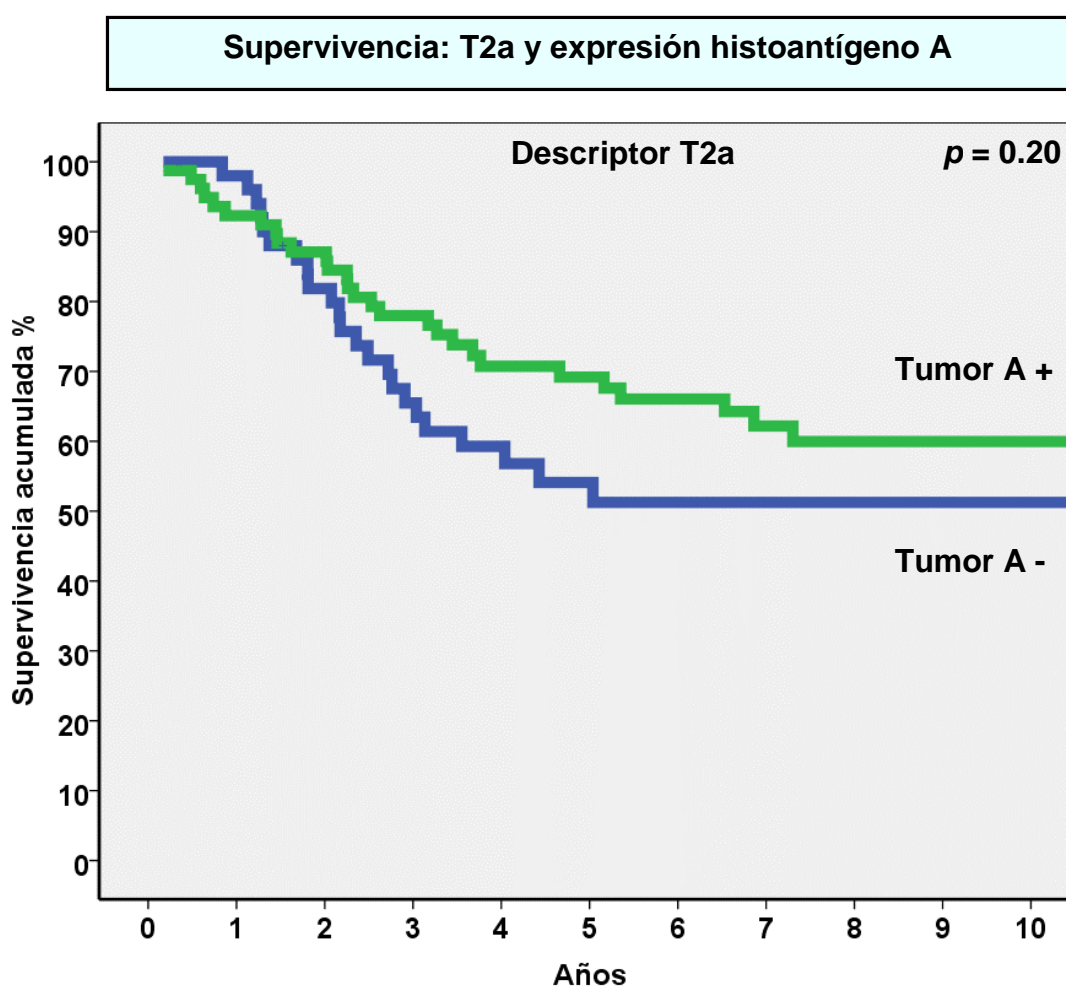


Figura 16: Curvas de supervivencia de los pacientes con descriptor T2a en función de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A y la diferencia estadística encontrada.



Por último, se analizó la supervivencia en función de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A estratificando según el tipo histológico (tabla XLIII).

Tabla XLIII

Supervivencia a los 5 años				
		Expresión tumoral del histoantígeno A		
		Negativa	Positiva	<i>p</i>
Tipo histológico	Ca. epidermoide	65	67	0.021
	Adenocarcinoma	36	65	
	Ca. células grandes	--	--	

En este caso también, los pacientes que mantenían la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A, globalmente tenían una mejor supervivencia ( $p = 0.021$ ).

Sin embargo, cuando analizamos la supervivencia en función de la expresión tumoral del histoantígeno A estratificando por tipos histológicos, obtuvimos que los pacientes con adenocarcinoma que habían perdido la expresión del histoantígeno A tenían una menor supervivencia ( $p = 0.003$ ) que los que mantenían la expresión del mismo. Esta diferencia no se encontró en el carcinoma epidermoide ( $p = 0.58$ ). No se estudió esta relación en el carcinoma de células grandes por el escaso número de pacientes de este grupo (7 pacientes).

La representación gráfica de este hecho se muestra en las figuras 17 y 18.

Figura 17: Supervivencia de los pacientes con adenocarcinoma en función de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A.

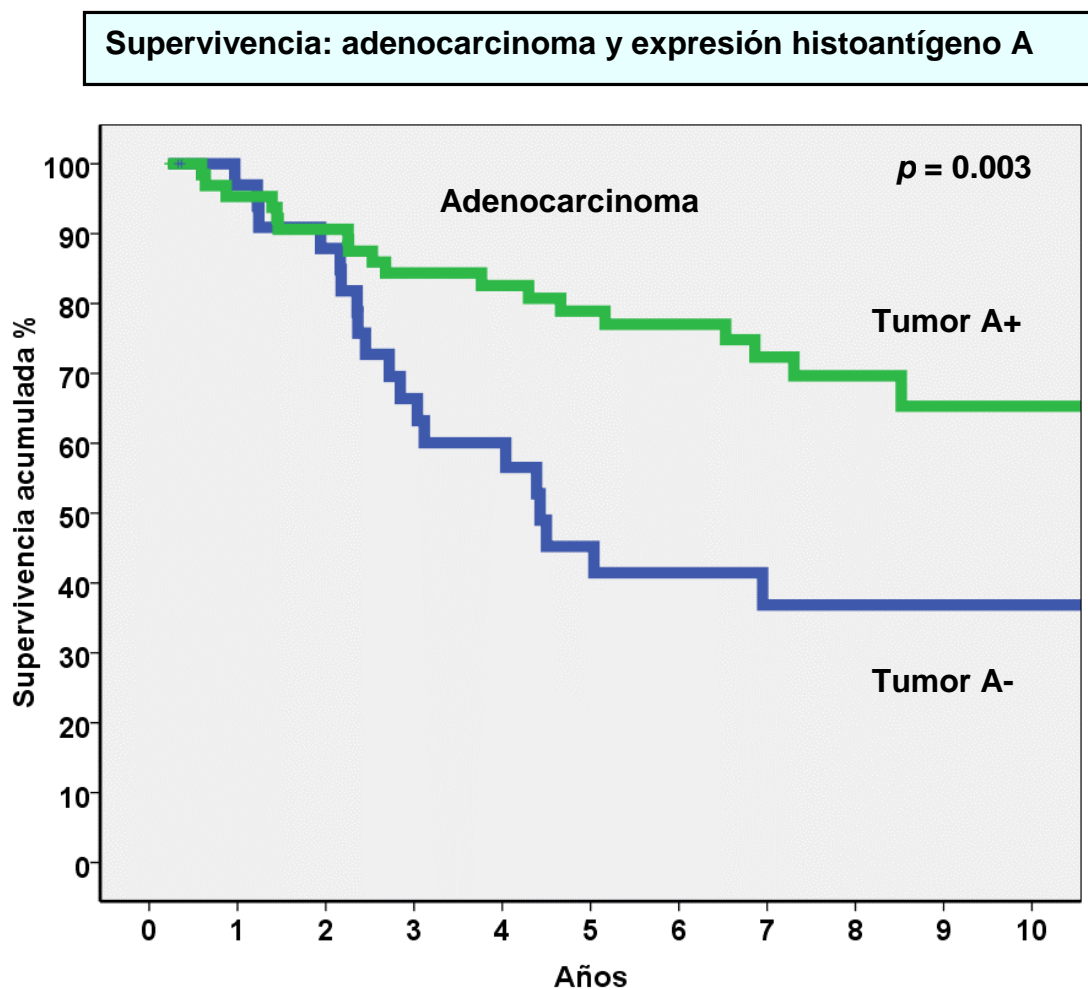
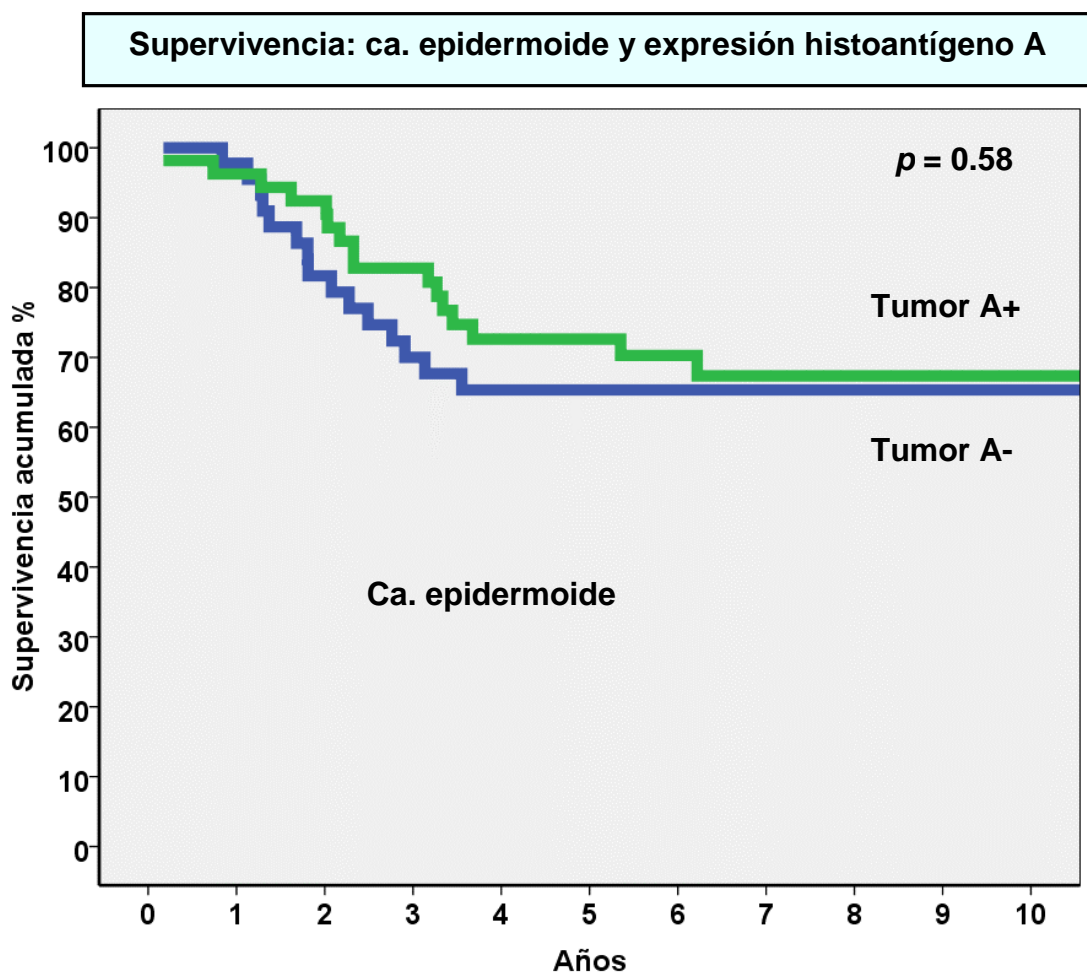


Figura 18: Supervivencia de los pacientes con carcinoma epidermoide en función de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A.



### 5.4.1 Análisis multivariable

Al igual que en la serie general, en la serie de pacientes con grupos sanguíneos A o AB, también se construyó un modelo de análisis multivariable para identificar el efecto sobre la supervivencia de cada uno de los factores que pueden influir en el pronóstico de los pacientes.

Las variables que se incluyeron en el análisis fueron: edad, sexo, tipo histológico, tipo de resección quirúrgica, estadio y expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A.

El análisis multivariable muestra que la edad, el sexo y la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A son factores pronósticos independientes

La edad y el sexo confirman los resultados del análisis de supervivencia de la serie general de 402 pacientes con carcinoma no microcítico de pulmón en estadio I.

En el caso del estadio, la “*p*” se acerca a la significación estadística ( $p = 0.068$ ) pero sin alcanzarla, a diferencia de lo que ocurría en la serie general. La causa más probable es que en esta serie de pacientes con sangre de los grupos A o AB el número de casos prácticamente se ha reducido a la mitad de los de la serie general.



El resultado del análisis mediante el modelo de riesgos proporcionales de Cox se describe en la tabla XLIV.

Tabla XLIV

ANÁLISIS MULTIVARIABLE DE SUPERVIVENCIA							
	$\beta$	EE	Wald	$p$	HR	IC 95% de HR	
						Superior	Inferior
Edad	0.033	0.015	4.458	0.035	1.033	1.002	1.065
Sexo	1.077	0.523	4.233	0.040	2.936	1.052	8.190
Tipo histológico	---	---	3.389	0.184	---	---	---
*ca. epidermoide vs adenocarcinoma	0.468	0.259	3.265	0.071	1.596	0.961	2.650
*ca. epidermoide vs ca. células grandes	0.12	0.737	0.000	0.987	1.012	0.238	4.291
Tipo de resección	---	---	0.450	0.799	---	---	---
*resección atípica vs lobectomía	0.088	0.337	0.068	0.795	1.092	0.564	2.111
*resección atípica vs neumonectomía	0.303	0.467	0.420	0.517	1.354	0.541	3.384
Estadio (IA y IB)	0.505	0.277	3.333	0.068	1.657	0.964	2.849
Expresión tumoral histoantígeno A	0.488	0.244	4.001	0.045	1.628	1.010	2.626

El análisis, ajustado por el resto de las variables que se introdujeron en el modelo, mostró que los pacientes que pierden la expresión en el tumor del histoantígeno del grupo sanguíneo A fallecen

1.62 veces más que los pacientes que mantienen la expresión de dicho antígeno.

El análisis también mostró que los varones fallecen 2.93 veces más que las mujeres y que los pacientes mayores de 70 años fallecen 1.03 veces más que los pacientes con edad igual o inferior a 70 años.

## **V. DISCUSIÓN**

---

## 1. NUEVA CLASIFICACIÓN TNM DEL CÁNCER DE PULMÓN.

En 2009 la UICC y el AJCC publicaron la 7ª edición de la clasificación TNM de los tumores malignos. En esta edición se han realizado importantes modificaciones en la estadificación del cáncer de pulmón, las cuales se deben aplicar a partir de Enero de 2010<sup>57,58</sup>.

Desde la propuestas iniciales realizadas por el Dr. Clifton Mountain sobre un base de datos de 2155 pacientes del *MD Anderson Cancer Center* de Houston<sup>49</sup> y que fueron adoptadas por el AJCC en 1973 y por la UICC en 1974, el sistema de estadificación TNM del cáncer de pulmón ha sufrido varias revisiones. La última revisión se realizó en 1997 (también por C. Mountain) y fue aprobada y publicada en la 5ª edición de la clasificación TNM. En este momento, la base de datos del *MD Anderson Cancer Center* había crecido e incluía 5319 pacientes. La 6ª edición de la clasificación TNM de 2002 no introdujo cambios en la estadificación del cáncer de pulmón<sup>48,57</sup>.

La propuesta de realizar una nueva revisión de la clasificación TNM del cáncer de pulmón se originó en un taller sobre estadificación intratorácica patrocinado por la IASLC y celebrado en Londres en 1996. Para ello, la IASLC estableció un Comité Internacional de Estadificación en 1998. Se diseñó una base de datos internacional que finalmente agrupó a 81.015 pacientes válidos para el estudio, que procedían de 20

países diferentes, cuando se cerró la recogida de datos. Los distintos comités formados para el análisis de los datos y el desarrollo de recomendaciones, realizaron sus propuestas, que una vez aprobadas por el Comité Internacional de Estadificación de la IASLC, se publicaron en una serie de artículos en el *Journal of Thoracic Oncology*<sup>57,81,163-165</sup>. En 2007 se presentaron al AJCC y a la UICC, se aceptaron y se publicaron en la 7ª edición de la clasificación TNM de los tumores malignos de 2009. Los diferentes artículos que resumen todo este proceso se publicaron en la revista *Journal of Thoracic Oncology*<sup>48,57,64,78,79,81,163-171</sup>. El nuevo sistema de estadificación del cáncer de pulmón se publicó en la revista *Chest* en 2009<sup>58</sup>.

La característica más importante de la nueva clasificación TNM del cáncer de pulmón es que se ha realizado sobre los resultados obtenidos del análisis de una base internacional de datos, a diferencia de las anteriores que se basaban en los datos de una sola institución, con muchos menos pacientes (por lo que algunos subgrupos eran muy pequeños) y en los que tenía un gran peso el tratamiento quirúrgico<sup>58</sup>.

El nuevo sistema de estadificación del cáncer de pulmón, no sólo es aplicable al carcinoma no microcítico, sino que se ha ampliado al carcinoma microcítico<sup>167</sup> y a los carcinoides<sup>168</sup>. También se ha propuesto un nuevo mapa ganglionar<sup>64</sup>, se ha definido con mayor exactitud la invasión de la pleura visceral<sup>169</sup> y se han estudiado otros factores

pronósticos, aparte del estadio TNM<sup>78,79</sup>. Los cambios en las definiciones de los descriptores T, N y M, la agrupación por estadios y el nuevo mapa ganglionar se expusieron con detalle en el apartado material y métodos.

Las limitaciones del nuevo sistema de estadificación TNM de 2009 derivan de que se trata de un estudio retrospectivo. Por este motivo, había una gran heterogeneidad entre las bases de datos originales de los distintos centros y la mayoría no tenían como objetivo la valoración de la clasificación TNM. De ahí, que la IASLC haya iniciado un estudio prospectivo para actualizar la clasificación TNM en 2016, constituyendo una gran base internacional de datos, con el fin de evitar las desproporciones geográficas, terapéuticas y de los distintos tipos histológicos.

## **2. SELECCIÓN DE LA MUESTRA.**

A pesar de los avances médicos de los últimos años, la supervivencia de los pacientes con cáncer de pulmón es baja. Si nos centramos en el carcinoma no microcítico, que es el objeto de este estudio, la supervivencia global en Europa no supera el 15% a los cinco años en ningún país<sup>17,18</sup>.

El factor pronóstico más importante en el cáncer de pulmón es la clasificación TNM<sup>78</sup>. Según la nueva clasificación TNM de 2009, la supervivencia a los 5 años del estadio IA<sub>p</sub> es del 73% y del IB<sub>p</sub> del 58%<sup>57,58</sup>. Esto implica que un 30% aproximadamente de los pacientes en estadio I<sub>p</sub>, a pesar de haberles practicado una resección completa, desarrollan metástasis y fallecen por esta causa<sup>91</sup>.

Los estudios encaminados a identificar las características biológicas intrínsecas de cada tumor contribuyen a identificar los tumores, que con el mismo estadio TNM, van a tener un peor pronóstico, lo que puede servir para diseñar nuevos enfoque terapéuticos.

La probabilidad de recurrencia en pacientes en estadios avanzados es alta, por lo que en un estudio de identificación de factores pronósticos y marcadores biológicos, éstos pueden quedar enmascarados ante un tumor con gran extensión local o la presencia de diseminación ganglionar o metastásica, que son los que van a determinar en gran medida el pronóstico de los pacientes<sup>78,79</sup>. Por ello, nuestro estudio se ha centrado en pacientes con carcinoma no microcítico de pulmón en estadio I<sub>p</sub>, donde la influencia pronóstica de estas variables es mucho menor.

La cirugía sigue siendo el tratamiento de elección en el cáncer de pulmón en estadio I<sup>109-111</sup> y la resección completa el factor más importante a la hora de predecir la supervivencia de los pacientes intervenidos. De

ahí que en nuestro estudio se hayan excluido los pacientes con toracotomías exploradoras o resecciones incompletas.

Desde un punto de vista oncológico, aparte de una resección pulmonar completa, se debe realizar una linfadenectomía. En la literatura existen resultados divergentes entre el muestreo ganglionar y la disección ganglionar sistemática. Nosotros preferimos realizar una linfadenectomía sistemática, ya que identifica un mayor número de pacientes con ganglios metastatizados, lo que podría tener un efecto positivo en la supervivencia<sup>123-125</sup>. Sin embargo, las recomendaciones actuales mantienen la validez de los dos sistemas<sup>111</sup>.

En un análisis de factores pronósticos es necesario un seguimiento mínimo tras la cirugía para poder detectar la presencia de recurrencias o fallecimientos por causa tumoral. Por ello, en nuestro estudio se han excluido los pacientes que fallecieron en el postoperatorio.

El grupo histológico seleccionado para este trabajo ha sido el carcinoma de pulmón no microcítico. Se han excluido los pacientes con carcinoma microcítico, ya que su comportamiento biológico es muy distinto y se caracteriza por un rápido índice de crecimiento, una diseminación ganglionar y metastásica muy temprana, una gran sensibilidad a los tratamientos con quimio y radioterapia y un pronóstico peor que los carcinomas no microcíticos<sup>171</sup>.



También se han excluido los pacientes que han recibido quimioterapia adyuvante, ya que puede alterar la evolución y la supervivencia de los mismos. Varios estudios aleatorizados han confirmado la mejora en la supervivencia que proporciona la quimioterapia adyuvante basada en el platino en los estadios iniciales del cáncer de pulmón resecado completamente. Sin embargo, en el estadio IA la quimioterapia ha tenido resultados deletéreos, fundamentalmente por la alteración del sistema inmune y las complicaciones infecciosas que conlleva<sup>91,103-106</sup>. Por tanto, en nuestro estudio sólo se han seleccionado los pacientes que no han recibido tratamiento adyuvante, con el fin de evitar que el tratamiento complementario altere cualitativamente las comparaciones que se establezcan entre los distintos grupos.

Los criterios de selección de la muestra descritos anteriormente nos han permitido identificar un grupo homogéneo de pacientes con escasa variabilidad en los principales factores pronósticos clínicos y anatómicos. De este modo, el análisis del valor pronóstico de la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en los carcinomas no microcíticos de pulmón en estadio I<sub>p</sub> no se verá alterado por otros factores con influencia conocida sobre la supervivencia.

### **3. VALIDAR NUESTRA SERIE DE CARCINOMAS NO MICROCÍTICOS EN ESTADIO I<sub>p</sub> SEGÚN EL NUEVO SISTEMA DE ESTADIFICACIÓN DEL CÁNCER DE PULMÓN.**

Como ya hemos visto, la 7ª edición de la clasificación TNM ha introducido importantes modificaciones en la estadificación del cáncer de pulmón<sup>58</sup>.

Los cambios principales que han afectado al estadio I son los referentes al tamaño tumoral. Se han mantenido los 3 cm como punto de corte para separar los tumores T1 de los T2 y se han introducido otros nuevos: 2, 5 y 7 cm. Concretamente, el T1 se ha dividido en: T1a, cuando el diámetro mayor del tumor es menor o igual a 2 cm y T1b, cuando es mayor de 2 cm y menor o igual a 3 cm. El T2 se ha dividido en: T2a, cuando el diámetro del tamaño tumoral es mayor de 3 cm y menor o igual a 5 cm y T2b, cuando es mayor de 5 cm y menor o igual a 7 cm. Los tumores mayores de 7 cm se clasifican ahora como T3. Estos cambios han modificado la clasificación por estadios. El estadio IA ahora tiene dos descriptores T (T1a y T1b) y al estadio IB le corresponde el descriptor T2a<sup>57,58,81</sup>.

Como consecuencia de todo esto, el estadio I se ha restringido a los tumores menores de 5 cm de diámetro, lo que ha provocado que para realizar este estudio se hayan tenido que excluir bastantes casos cuando

se reestadificaron los pacientes según la nueva clasificación TNM. Sin embargo, como nuestra investigación se centra en pacientes en estadio I<sub>p</sub>, ningún paciente tiene afectación adenopática, lo que nos ha permitido realizar una correcta reestadificación, ya que se evitan las posibles discrepancias derivadas de las modificaciones que se han efectuado en el nuevo mapa ganglionar.

En el nuevo sistema de estadificación TNM, el factor más importante que se ha utilizado para la clasificación según los descriptores T, N y M y su agrupación por estadios ha sido la supervivencia global<sup>58</sup>. En nuestra serie, también hemos utilizado la supervivencia global como método para el análisis estadístico de los factores pronósticos, ya que creemos que es un factor mucho más objetivo de identificar (fecha de muerte) que el intervalo libre de enfermedad, debido a que muchas veces es difícil de averiguar el momento exacto de la recidiva. Además, en muchas series que han estudiado el valor pronóstico de la pérdida de la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH en diferentes tipos de tumores se incluyen pacientes en todos los estadios<sup>144,158</sup>, por lo que en estos casos es difícil utilizar el intervalo libre de enfermedad para el análisis comparativo de resultados.

La supervivencia global de nuestra serie de 402 pacientes con carcinoma no microcítico de pulmón en estadio I<sub>p</sub> es del 68% a los 5 años. En el estadio IA la supervivencia a los 5 años es del 76% y en IB del 62%.

La supervivencia a los 5 años publicada tras el análisis de los datos en la nueva clasificación TNM para los estadios patológicos IA y IB es del 73% y 58% respectivamente<sup>57,58</sup>. A la vista de estos hallazgos, podemos concluir que nuestros resultados de supervivencia se ajustan a los publicados en la 7ª edición de la clasificación TNM del cáncer de pulmón, por lo que podemos validar nuestra serie de pacientes en estadio I<sub>p</sub> con el nuevo sistema de estadificación de 2009.

Chansky et al.<sup>78</sup> analizaron los factores pronósticos de los pacientes con carcinoma no microcítico de pulmón tratados quirúrgicamente que sirvieron para realizar la nueva clasificación TNM y encontraron que el factor pronóstico más importante es el estadio patológico TNM. Este hallazgo también se da en nuestra serie, donde encontramos diferencias estadísticamente significativas tanto en el análisis por estadios (IA frente a IB), como en el análisis de los descriptores T (T1a, T1b y T2a).

Como se ha comentado, el tamaño tumoral tiene valor pronóstico en si mismo<sup>58,80,81</sup>, por lo que analizamos la supervivencia de los pacientes de nuestra serie clasificándolos únicamente en función del tamaño (sin tener en cuenta la invasión de la pleura visceral o la neumonitis obstructiva) y encontramos que también existían diferencias estadísticamente significativas.

Chansky et al.<sup>78</sup> también encontraron que el sexo y la edad son importantes factores pronósticos en el carcinoma no microcítico de pulmón resecado quirúrgicamente. Igualmente, en nuestra serie se confirma que el género masculino y la edad mayor de 70 años son factores pronósticos negativos.

En el tipo histológico no encontramos diferencias estadísticamente significativas en nuestra serie, en lo que a influencia pronóstica se refiere. Chansky et al.<sup>78</sup> obtuvieron una mejor supervivencia de los pacientes con carcinoma bronquioloalveolar, como ya habían publicado otros autores<sup>41,78,82</sup>. Sin embargo, en nuestra serie no se estudió esta relación, ya que los pocos casos de carcinomas bronquioloalveolares se incluyeron en el grupo de los adenocarcinomas para el análisis estadístico.

En el momento actual, la lobectomía se considera la resección más adecuada en el tratamiento quirúrgico del cáncer de pulmón, ya que existe un mayor porcentaje de recurrencias en las resecciones atípicas y las segmentectomías<sup>88</sup>. Sin embargo, estudios más recientes han comunicado resultados comparables a la lobectomía en tumores periféricos de pequeño tamaño, fundamentalmente carcinomas bronquioloalveolares<sup>117,172-174</sup>. Por ello, en las recomendaciones actuales, las resecciones menores de un lóbulo se reservan únicamente para este tipo de tumores en las condiciones adecuadas<sup>118</sup>. En nuestra serie

tampoco encontramos diferencias en la supervivencia según el tipo de resección quirúrgica practicada.

Se estudió también la supervivencia de los pacientes con grupos sanguíneos A y AB, frente a los pacientes con grupos sanguíneos B y O y tampoco se encontró ninguna diferencia ( $p = 0.96$ ).

Por tanto, concluimos que el análisis de supervivencia y factores pronósticos de nuestra serie se ajusta a los resultados de la nueva clasificación TNM-2009 del cáncer de pulmón, con la ventaja de presentar un grupo de pacientes con carcinoma no microcítico en estadio I<sub>p</sub> que no han recibido tratamiento adyuvante que podría alterar los resultados finales.

#### **4. ESTRUCTURA, SÍNTESIS Y FUNCIONES DE LOS OLIGOSACÁRIDOS DE LA MEMBRANA CELULAR.**

La membrana celular, no sólo es la frontera física que define el límite de la célula, sino que además cumple funciones específicas como son la capacidad de reaccionar con otras células y con la matriz intracelular<sup>175</sup>.

Los carbohidratos son estructuras que se encuentran en la superficie celular unidos a lípidos o proteínas de la membrana y juegan un

papel importante en el reconocimiento celular, en la organización de órganos y tejidos, en el desarrollo y diferenciación celular y como mediadores en la trasducción de las señales<sup>176</sup>.

Se han descritos cambios en la estructura de los carbohidratos de los glicolípidos y glicoproteínas de la membrana celular durante el desarrollo, durante la maduración celular en los tejidos adultos y en relación con el desarrollo de lesiones malignas<sup>144,146</sup>.

Los carbohidratos de la superficie celular tienen un enorme potencial para actuar como moléculas de información. Los monosacáridos se pueden unir en diferentes secuencias y con diferentes enlaces glicosídicos, generando una gran complejidad de cadenas glicídicas. La variedad de estructuras que se pueden formar con un número limitado de unidades es, por tanto, mucho mayor en las cadenas de oligosacáridos que en los péptidos. Cada unidad glicídica tiene 3 ó 4 sitios diferentes de unión con el siguiente azúcar, en contraste con los aminoácidos que sólo tienen un sitio de unión con la siguiente unidad monomérica. Se ha calculado que un hexasacárido tiene  $10^{12}$  posibles permutaciones isoméricas<sup>177</sup>.

Los carbohidratos pueden unirse a las proteínas por el grupo  $\text{NH}_2$  y se le conoce como N-glicanos o por el grupo hidroxilo y se les denomina O-glicanos. Hay una gran heterogeneidad entre los oligosacáridos

pertenecientes a cada grupo, pero a pesar de la aparente complejidad, puede deducirse una estructura nuclear común y variaciones en las cadenas laterales ensambladas en la estructura del núcleo<sup>178</sup>.

Los carbohidratos unidos a los lípidos de la membrana celular son los glicoesfingolípidos. Al igual que ocurre en las glicoproteínas, están formados por un núcleo central y varias cadenas periféricas unidas al mismo. Según la estructura de su núcleo central, se clasifican en las siguientes series<sup>176</sup>:

- Lacto-series Tipo 1
- Lacto-series Tipo 2
- Globo-series
- Ganglio-series

Aunque los hidratos de carbono son estructuras extremadamente complejas, su expresión en la célula está muy regulada y, dentro de cada órgano en particular, se expresan de un modo que se correlaciona con la diferenciación celular. Cuando los carbohidratos están unidos a proteínas, los cambios en la glicosilación pueden afectar la conformación y función de la proteína, lo que influye en la interacción entre la célula y su entorno. Así, el receptor “Notch” que es una proteína transmembrana que media la comunicación asociada con la diferenciación celular, está regulado por las alteraciones en la glicosilación de la proteína<sup>179</sup>.



Existen importantes diferencias entre la síntesis de oligosacáridos y las proteínas. Mientras que las proteínas se sintetizan a partir de una plantilla de ARN<sub>m</sub> utilizando siempre las mismas enzimas, los carbohidratos de la superficie celular se construyen de forma escalonada, transfiriendo un monosacárido cada vez desde los diferentes derivados glicídicos a su apropiado receptor. Cada tipo de transferencia es catalizado por una única y específica transferasa y además, se requiere que cada producto sea reconocido como único sustrato del siguiente paso. Por tanto, las estructuras de los oligosacáridos de los glicolípidos y las glicoproteínas no son productos primarios de los genes, sino el resultado de una complicada maquinaria celular, por la cual, desde un pequeño número de monosacáridos, se generan multitud de estructuras de oligosacáridos a través de uniones entre los distintos isómeros de azúcares. Cada unión está catalizada por una enzima diferente. Esta gran familia de enzimas se denominada glicosiltransferasas y sólo catalizan un tipo de unión específica a su receptor específico. A menudo requieren como cofactor un ión metálico. Se dividen en grupos según el tipo de azúcar que transfieren (galactosiltransferasas, fucosiltransferasas, etc.) y dentro de cada grupo existen diferentes subgrupos<sup>177</sup>.

La pérdida o cambio en una enzima bloqueará la síntesis de la estructura carbohidratada, que quedará como un precursor de la misma. Esto es muy diferente de lo que ocurre con los antígenos proteicos, donde

la ausencia de expresión de un gen se acompaña habitualmente de la pérdida de la molécula entera<sup>180</sup>. Por otro lado, la composición intrínseca de las glicosil-transferasas que depende del genotipo del individuo, la actividad o la cantidad de esas enzimas, la aparición de nuevas enzimas que pueden competir por el sustrato o elongar la estructura previamente terminada, la organización de las enzimas en las membranas celulares y el nivel de actividad de las enzimas degradadoras darán lugar a alteraciones de los carbohidratos que finalmente se expresen<sup>181</sup>.

Debido a la complejidad de todos estos procesos, se cree que los carbohidratos de los glicolípidos y glicoproteínas cumplen funciones muy importantes que no son totalmente conocidas y entre las que destacan las siguientes:

- Los glicolípidos y las glicoproteínas de la membrana celular juegan un papel importante en el reconocimiento y la adhesión celular<sup>176,182</sup>, en la relación patógeno-huesped<sup>176,183</sup>, en la inmunidad innata y adquirida<sup>184</sup> y en el reclutamiento de neutrófilos en los lugares de daño tisular<sup>185</sup>.
- Junto con las “chaperonas” moleculares, que son un conjunto de proteínas que median en el correcto ensamblaje de otros polipéptidos pero que no son componentes funcionales de las estructuras ensambladas, participan en el plegamiento y transporte de glicoproteínas a través de los compartimentos celulares<sup>186</sup>.

- Son las moléculas de reconocimiento de las lectinas, que son unas proteínas que se unen a los carbohidratos con una elevada especificidad para cada tipo distinto y que están ampliamente distribuidas en la naturaleza<sup>187</sup>.
- Como componentes de un tipo de glicoproteínas llamadas galectinas, realizan varias actividades intracelulares como son el control del ciclo celular, la lucha contra la apoptosis y el procesamiento del ARN<sup>188</sup>.
- Los glicosaminoglicanos, la mitad carbohidratada de los proteoglicanos, participan en una amplia gama de funciones biológicas entre las que destaca la formación de una matriz extracelular, a la que se unen los factores de crecimiento con una gran especificidad, por lo cual, regulan la actividad de los factores de crecimiento<sup>176,189</sup>.

En los tumores, se han descrito cambios en la glicosilación tanto de glicolípidos como de glicoproteínas<sup>144,146</sup>. La mayoría de los estudios tratan sobre la alteración de los carbohidratos de la superficie celular. Sin embargo, se ha demostrado que las alteraciones en la glicosilación juegan un papel importante en la mayoría de los aspectos del fenotipo maligno, entre los que se incluyen la trasducción de señales y la apoptosis<sup>190,191</sup>.

## 5. ANTÍGENOS DEL GRUPO SANGUÍNEO ABH

Como ya se ha comentado en la introducción, el sistema del grupo sanguíneo ABO(H) fue descubierto por el científico austriaco Karl Landsteiner en 1900<sup>136</sup>, que describió 3 tipos distintos de sangre (A, B y O) en función de las diferencias serológicas encontradas en la misma y que se denominaron Ley de Landsteiner. En 1902, DesCasterllo y Sturli descubrieron el cuarto tipo (AB)<sup>140</sup>. El grupo sanguíneo ABO, que fue el primero en descubrirse, es el más importante de entre los 29 sistemas de grupos sanguíneos conocidos<sup>137</sup> y el que continúa teniendo mayor importancia en las transfusiones sanguíneas<sup>136</sup>.

Los antígenos del grupo sanguíneo ABH se describieron originalmente en la membrana de los glóbulos rojos, de ahí su designación como antígenos de grupo sanguíneo. Sin embargo, su distribución tisular en humanos es mucho mayor, ya que se encuentran en otros muchos tipos de células, principalmente de tipo epitelial, aunque también se han descrito en células del endotelio vascular, algunas neuronas sensoriales, en las secreciones e incluso en los ovocitos. Sin embargo, no se han encontrado en los músculos o tejidos conectivos<sup>138,144,145</sup>. De hecho, estudios ontogenéticos y filogenéticos han demostrado que los antígenos del grupo sanguíneo ABH evolucionaron antes en las células epiteliales que en los eritrocitos y, por tanto, deberían ser considerados como histoantígenos<sup>192</sup>. Desde un punto de vista

filogenético, su presencia en células epiteliales del aparato digestivo es muy antigua, detectándose en células gastrointestinales de los anfibios y de todos los mamíferos. En los eritrocitos su presencia es más reciente y restringida sólo a los homínidos. Por otro lado, en el epitelio fetal se encuentran en una fase muy inicial del desarrollo<sup>144</sup>.

Los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH son una variedad de glicolípidos y glicoproteínas de la membrana celular que se diferencian según el tipo de oligosacárido presente y cuya especificidad antigénica viene determinada por la variación en los constituyentes de sus cadenas de carbohidratos<sup>139</sup>.

### **5.1 Biosíntesis y estructura de los antígenos del grupo sanguíneo ABH.**

Dos antígenos glicídicos (A y B) y sus correspondientes anticuerpos constituyen el grupo sanguíneo ABO(H). El primer paso para la síntesis de los antígenos del grupo sanguíneo ABH es la adición de una L-Fucosa, por acción de la  $\alpha$ 1,2-fucosiltransferasa sobre un precursor disacárido unido a lípidos o proteínas, para formar el antígeno H. Se conocen 6 tipos distintos de estructura precursora, de las que 4 pueden llevar actividad antigénica del grupo ABH. Las secuencias Tipo 1 ( $\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 3\text{GlcNAc}\beta 1\text{-R}$ ) y la Tipo 2 ( $\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 4\text{GlcNAc}\beta 1\text{-R}$ ) son las

estructuras más importantes y pueden formar parte de las O-glicoproteínas, de las N-glicoproteínas y de los glicolípidos de las lactoseries. La estructura precursora Tipo 1 se expresa ampliamente en los tejidos derivados del endodermo como revestimientos epiteliales y epitelios glandulares. La Tipo 2 se encuentra principalmente en los tejidos derivados de ectodermo y mesodermo, entre los que se incluyen los eritrocitos. Las estructuras precursoras Tipo 3 ( $\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 3\text{GalNAc}\alpha 1\text{-R}$ ) y Tipo 4 ( $\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 3\text{GalNAc}\beta 1\text{-R}$ ) se han encontrado en tejidos derivados del ectodermo y endodermo, entre los que se incluyen las glándulas salivares y los riñones. La Tipo 3 es exclusiva de los O-glicanos y la Tipo 4 sólo se encuentra en los glicolípidos de las globo y ganglio series<sup>140,144,193</sup>.

Como también se ha comentado en la introducción, la síntesis del antígeno H es controlada por dos fucosiltransferasas codificadas por dos genes distintos que se localizan en el brazo largo del cromosoma 19<sup>141,142</sup>. Uno es el gen H (FUT1), que controla la expresión de los antígenos ABH en los glóbulos rojos, endotelios y epitelios. El otro es el gen Secretor (FUT2), que es el responsable de la expresión de los antígenos ABH en las secreciones, aunque también en algunas células epiteliales. Existe una tercer gen llamado Sec1 que codifica una  $\alpha 1,2$ -fucosiltransferasa, pero que está inactivado por la inserción de un nucleótido que provoca la interrupción de la lectura de la secuencia de codificación. Por tanto, el Sec1 es un pseudogén. La pérdida de expresión del gen H (hh) conduce

al denominado fenotipo “Bombay”, que se caracteriza por la ausencia de antígenos del grupo sanguíneo ABH en los eritrocitos. Este fenotipo es extremadamente raro y su frecuencia está en el rango de entre  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$ . La pérdida de función del gen secretor (sese) es responsable del fenotipo “no secretor”, en oposición al fenotipo “secretor”. El fenotipo “no secretor” se caracteriza por la ausencia de antígenos del grupo sanguíneo ABH en la saliva y en varios tipos de células epiteliales. A diferencia del fenotipo “Bombay”, el fenotipo “no secretor” no es raro, ya que se encuentra en el 20% de la población europea y norteamericana<sup>143,144</sup>.

Una vez formado el antígeno H, la biosíntesis continúa con la adición de una N-acetilgalactosamina, por acción de la  $\alpha 1,3$ -N-acetilgalactosaminiltransferasa en el caso del grupo A, o una galactosa, por acción de la  $\alpha 1,3$ -galactosiltransferasa en el caso del grupo B. El alelo O codifica proteínas sin actividad transferasa, por lo que el antígeno H es la única estructura ABH presente en el grupo sanguíneo O. La configuración del oligosacárido es lo que confiere la especificidad de grupo<sup>140</sup>. Las frecuencias fenotípicas del grupo sanguíneo ABO halladas en España se detallan en la tabla XLV<sup>136</sup>.

Tabla XLV

Fenotipo	%
A	44.03
O	46.68
B	8.77
AB	3.51

Los genes del grupo sanguíneo ABO se localizan en el brazo largo del cromosoma 9 (9q34.1-q34.2). Están formados por 7 exones distribuidos sobre 18 kb de ADN genómico. El exón 7 contiene la mayoría de la de la larga secuencia de codificación y en el exón 6 se localiza la delección encontrada en la mayoría de los alelos O<sup>140</sup>.

El locus ABO tiene tres formas alélicas principales (A, B y O). Los alelos A y B se diferencian en la sustitución de 7 nucleótidos. La sustitución de 4 de ellos conlleva la formación de 4 aminoácidos diferentes. Estas sustituciones determinan la especificidad de las glicosiltransferasas. El alelo A codifica la  $\alpha$ 1,3-N-acetilgalactosaminiltransferasa y el alelo B la  $\alpha$ 1,3-galactosiltransferasa. El alelo O difiere del alelo A en la simple delección de un nucleótido de guanina en la posición 261, lo que conlleva la pérdida de la actividad transferasa<sup>140</sup>.



Dentro del grupo sanguíneo ABO existen varios subgrupos, según la cantidad de antígeno A, B o H que expresan. El grupo sanguíneo A es el que mayor variedad de subgrupos presenta. El grupo sanguíneo A con una cantidad normal de antígeno se denomina  $A_1$ . Los subgrupos del grupo A se clasifican según la cantidad de antígeno A que expresan y que va decreciendo en el siguiente orden:  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $A_x$ ,  $A_{end}$ ,  $A_m$  y  $A_{el}$ . Aproximadamente, el 80% de la población europea con grupos sanguíneos A o AB pertenecen al subgrupo  $A_1$  y el 20% restante al subgrupo  $A_2$ <sup>140</sup>. El alelo  $A_2$  se diferencia del  $A_1$  únicamente en la simple delección de una base cerca del carboxilo terminal, lo que lo hace cualitativa y cuantitativamente diferente<sup>192,194</sup>.

## **5.2 Alteraciones de la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH en cáncer.**

El grado de malignidad de un tumor está controlado por muchos factores tales como: la movilidad e invasión de las células tumorales a través de la matriz extracelular y la membrana basal; la adhesión de las células tumorales a las células diana, en particular a las células endoteliales de la microcirculación; la actividad proteasa para destruir la matriz extracelular; la angiogénesis en el entorno de las células tumorales; la susceptibilidad a la apoptosis de las células tumorales, etc.

Los mecanismos para realizar estos eventos están funcionalmente controlados por una combinación de determinadas moléculas implicadas en los procesos, cada uno de las cuales está afectado directa o indirectamente por la glicosilación de proteínas funcionantes o gangliósidos de alrededor<sup>195</sup>.

Desde hace varias décadas se conoce la existencia en los tumores de cambios en los patrones de glicosilación de los glicolípidos y glicoproteínas de la superficie celular. Estudios recientes parecen indicar que dichas alteraciones son el resultado de una transformación oncogénica inicial y un elemento clave en la inducción de la invasión tumoral y en el desarrollo de metástasis<sup>196</sup>.

En algunos tumores, la elevada expresión de ciertos antígenos glicosilados promueve la invasión y las metástasis, mientras que la expresión de otros antígenos glicosilados suprime la progresión tumoral. El mecanismo de expresión de estos antígenos, en lo que se refiere al estado de los genes de sus respectivas glicosiltransferasas, se ha estudiado ampliamente. Sin embargo, se sabe muy poco sobre los mecanismos a través de los cuales los antígenos glicosilados inducen fenotipos invasivos y metastásicos en las células tumorales<sup>197,198</sup>.

En 2005, Fuster y Esko<sup>199</sup> realizaron una revisión de la literatura (159 artículos) sobre el papel de los carbohidratos en el cáncer y entre sus conclusiones hay que destacar que:

- Los tumores expresan de manera aberrante varias cadenas de carbohidratos que están implicadas en muchos aspectos de la progresión tumoral, incluidas la proliferación, invasión, angiogénesis y metástasis.
- La proliferación de las células tumorales está potenciada por la capacidad de los glicolípidos y las glicoproteínas de activar directamente los receptores de los factores de crecimiento tirosín-quinasa y por la capacidad de los proteoglicanos de funcionar como co-receptores de diversos factores solubles de crecimiento tumoral.
- La sobreexpresión de específicas glicosiltransferasas por parte de las células tumorales, promueve la formación carbohidratos tumorales que facilitan la invasión.
- Los carcinomas sobreexpresan habitualmente O-glicanos, que presentan ligandos a los receptores de adhesión, como las selectinas, lo que promueve la capacidad de las células tumorales de interactuar con las plaquetas activadas, leucocitos y células endoteliales. Estas interacciones facilitan la diseminación metastásica hematógica.

- Los glicosfingolípidos que sobreexpresan algunos tumores y son vertidos al torrente sanguíneo, pueden alterar la defensa inmunitaria del organismo frente a las células tumorales.

Los 29 grupos sanguíneos conocidos<sup>137</sup> tienen una amplia diversidad estructural, por lo que poseen una gran variedad de funciones biológicas que se pueden dividir en 5 categorías<sup>200</sup>:

- Transportadores y canales
- Receptores de ligandos, virus, bacterias y parásitos
- Moléculas de adhesión
- Enzimas
- Proteínas estructurales

Los antígenos de los grupos sanguíneos están presentes en los receptores que controlan la proliferación, la adhesión y movilidad celular, tales como el EGFR, integrinas, cadherinas y CD-44. Así, se ha demostrado que los N-glicanos del EGFR están implicados en la unión a los ligandos y la dimerización, por lo que juegan un papel importante en la función del receptor<sup>201</sup>. Sin embargo, la función de la expresión de los histoantígenos el grupo sanguíneo ABH en los diferentes tejidos no está clara, ya que cerca del 50% de la población es grupo O y un 20% poseen un fenotipo “no secretor”. Incluso, los individuos con fenotipo “Bombay, que carecen de la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo

ABH, se desarrollan normalmente y no muestran síntomas de enfermedad grave<sup>146</sup>.

Hace más de medio siglo que se conoce la existencia de una mayor incidencia de cáncer gástrico en los pacientes con grupo sanguíneo A con respecto a los del grupo O<sup>202</sup>. Sin embargo, no se conoce la causa exacta de ello. Marionneau et al.<sup>203</sup> lo asocian a la mayor resistencia a la apoptosis que tienen las células que expresan los histoantígenos A o B. Por el contrario, la probabilidad de supervivencia de los pacientes del grupo sanguíneo O que han desarrollado un carcinoma no microcítico de pulmón es menor que la de los pacientes con grupos sanguíneos A o B<sup>83</sup>, lo que se puede deberse a una menor movilidad de las células que expresan estos antígenos y, por tanto, a una menor capacidad de dar metástasis<sup>144,146</sup>. Del mismo modo Kuemmel et al.<sup>204</sup>, en una serie de 83 pacientes intervenidos por carcinoma no microcítico de pulmón, observaron una tendencia de mejor supervivencia en los pacientes con grupos sanguíneos A o AB, frente a los pacientes con grupos B o O, aunque no era estadísticamente significativa ( $p = 0.15$ ).

Matsumoto et al.<sup>154</sup> encuentran que la pérdida de expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH en el cáncer de pulmón se correlaciona con un mayor potencial metastásico, fundamentalmente con la recurrencia por metástasis hematógenas a distancia. Ichikawa et al.<sup>205,206</sup>, en estudios experimentales con líneas celulares de carcinoma de

colon humano, encuentran una menor movilidad de las células que expresan dichos antígenos (fundamentalmente el histoantígeno A), lo que podría explicar la mayor capacidad metastásica de las células que han perdido la expresión de los mismos.

Todos estos estudios parecen indicar que la expresión de los histoantígenos A y B inhibe la migración celular. Como los pacientes que mantienen la expresión del histoantígeno A en las células tumorales tienen mejor pronóstico que los del grupo O, se puede argumentar que el antígeno A tiene una función de protección que puede estar relacionada con la inhibición de la motilidad de las células tumorales, aunque los mecanismos responsables todavía se desconocen.

Los determinantes antigénicos del grupo sanguíneo ABH se localizan en la porción terminal de las cadenas de los carbohidratos de los glicolípidos y glicoproteínas de la membrana celular. Como ya se ha referido previamente, se encuentran ampliamente distribuidos en la mayoría de los tejidos de estirpe epitelial y su grado de expresión depende del tipo de diferenciación del epitelio y del grado de maduración de la célula dentro del mismo<sup>145</sup>.

Desde su primera descripción en el cáncer gástrico<sup>148</sup>, la pérdida de expresión de los histoantígenos A y B se ha descrito en la mayoría de los carcinomas como: carcinomas de la cavidad oral, estómago, colon

proximal, páncreas, laringe, pulmón, endometrio, ovario, próstata, vejiga urinaria y mama. Sin embargo, estos antígenos aparecen en carcinomas derivados de algunos tejidos en los que no están normalmente presentes, tales como el epitelio colorrectal, el parénquima hepático y el tiroides<sup>144,203</sup>. Al igual que ocurre en los carcinomas colorrectales, las células epiteliales del colon y recto del feto expresan antígenos ABH. Esta es la razón por la que, en algunas ocasiones, a los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH se han clasificado como antígenos oncofetales<sup>144</sup>.

Además, la pérdida de la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH también se ha descrito en lesiones premalignas de la mucosa gástrica, próstata, mucosa cervical<sup>207</sup>, hiperplasia epitelial de mama y mucosa oral<sup>144</sup>. Sánchez Mora et al.<sup>150</sup> también la describen en la metaplasia escamosa bronquial, concluyendo que su estudio sugiere que la pérdida de la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH es un evento de la carcinogénesis de la mucosa bronquial y se asocia habitualmente con lesiones de alto grado y actividad hiperproliferativa.

La pérdida de la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH está causada por la pérdida de la actividad de las glicosiltransferasas específicas. Los mecanismos implicados en ello son los siguientes:

- Los alelos ABO se localizan en el brazo largo del cromosoma 9 (9q34.1-q34.2), que es uno de los cromosomas de los más

intensamente implicados en la carcinogénesis. Por tanto, la delección o la pérdida de heterocigosidad en dicho región conllevará la pérdida de expresión de los histoantígenos ABH.

- Hipermetilación del ADN de la región promotora ABO, lo que impide que se pueda realizar de la transcripción<sup>144,146,196,208</sup>.

La aparición de histoantígenos ABH en carcinomas colorrectales depende de la presencia de una  $\alpha 1,2$ -fucosiltransferasa. Esta actividad enzimática está ausente en el epitelio del colon normal. La actividad enzimática A y B están presentes, pero no se pueden sintetizar los histoantígenos A o B ante la ausencia de la estructura H, que es necesaria como sustrato. Por tanto, la aparición en estos tumores de actividad  $\alpha 1,2$ -fucosiltransferasa es la responsable de la expresión de los histoantígenos A o B<sup>144</sup>.

La presencia de un histoantígeno A incompatible o aberrante consiste en la expresión del histoantígeno A en pacientes con grupos sanguíneos B o O. En nuestra serie no hemos encontrado ningún paciente con estas características. Durante mucho tiempo se pensó que esto se debía a reactividad cruzada de los reactivos con estructuras relacionadas. Sin embargo, se ha demostrado la presencia de actividad enzimática A en pacientes genotipo O/O. El mecanismo molecular responsable de la aparición de actividad enzimática A en individuos cuyos genes ABO están inactivados (OO), todavía se desconoce<sup>144,146</sup>.



En varias publicaciones se han relacionado las alteraciones de la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH con el pronóstico. Así, la pérdida de expresión de los histoantígenos A y B se asocia con un mal pronóstico en cánceres de pulmón, vejiga y en los cánceres de cabeza y cuello. Por el contrario, la expresión de dichos histoantígenos en los carcinomas colorrectales se asocia a un pronóstico desfavorable. Por último, en los carcinomas de ovario y mama no parece existir asociación pronóstica<sup>144</sup>.

Das et al.<sup>209</sup>, analizando la antigenicidad ABH de las biopsias de la mucosa de 36 pacientes con carcinoma superficial de vejiga, obtuvieron un índice de recurrencias estadísticamente significativo en los pacientes que habían perdido dicha antigenicidad.

Malmström et al.<sup>210</sup>, en un estudio retrospectivo de 230 pacientes con carcinoma transicional de vejiga, encuentran que la supervivencia a los 5 años de los pacientes con tumores con expresión “positiva” de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH es del 80%, frente a los tenían expresión “negativa” que era del 60% ( $p < 0.01$ ).

Wolf et al.<sup>211</sup>, en un estudio de factores pronósticos realizado con 82 pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello, encuentran que el 78% de los pacientes cuyos tumores habían perdido la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH presentaron una recidiva

precoz, en comparación con aquellos que mantenía la expresión, donde sólo se produjo la recidiva en el 37% ( $p = 0.012$ ).

Dabelsteen y Gao<sup>212</sup>, en una amplia revisión de la literatura publicada en 2005 sobre los histoantígenos del grupo sanguíneo ABO en cáncer oral, concluyen que los pacientes que mantienen la expresión de los histoantígenos A o B parecen tener un mejor pronóstico, lo que podría estar relacionado con la inhibición de la motilidad de las células neoplásicas.

A diferencia de lo que ocurre en la mayoría de los tumores, en el carcinoma colorrectal la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH se asocia a un peor pronóstico. Nakagoe et al.<sup>213</sup>, en una serie de 82 pacientes con carcinoma colorrectal, encuentran una supervivencia a los 5 años de los tumores que expresan los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH del 33.5%, frente a un 75.4% los que no los expresan ( $p = 0.0008$ ). Tsuboi et al.<sup>214</sup>, en un artículo publicado en 2007 y con una muestra de 74 pacientes con carcinoma colorrectal concluyen que:

- En los pacientes con grupos sanguíneos A y B se indujo la expresión de los histoantígenos A o B en los tejidos tumorales del colon distal, lo que se asocia específicamente a una  $\alpha 1,2$ -fucosilación.

- La inmunodetección de los antígenos  $\alpha$ 1,2-fucosilados se mostró superior a la detección con anticuerpos Anti-A y Anti-B como factor pronóstico en el postoperatorio de pacientes intervenidos por carcinoma colorrectal.

Los hallazgos descritos por Tsuboi et al. concuerdan con lo anteriormente expuesto, debido a que es necesaria la aparición de una actividad  $\alpha$ 1,2-fucosiltransferasa para que se pueda sintetizar la estructura H, sobre la que posteriormente actuarán las transferasas específicas A o B. De este modo se puede obtener la expresión de los histoantígenos ABH en el tejido tumoral, ya que en el tejido colorrectal normal no están expresados.

Sin embargo, en los carcinomas de mama y ovario no se ha encontrado relación entre el pronóstico y la pérdida o sobreexpresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH. Así, Welshinger et al.<sup>215</sup>, en una serie de 137 pacientes con carcinoma de ovario en estadio avanzado, no encuentran relación entre la supervivencia y la pérdida o expresión de dichos antígenos. Del mismo modo, Lee et al.<sup>216</sup>, en un análisis retrospectivo de 233 pacientes con carcinoma de mama invasivo, tampoco encuentran relación entre el pronóstico y la pérdida o expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH.

### **5.3 Alteraciones de la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH en cáncer de pulmón.**

Al igual que en la mayoría de los tumores, la pérdida de expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH también se ha descrito en el cáncer de pulmón. Davidsohn y Ni<sup>151</sup> fueron los primeros en publicar este hecho en 1969 utilizando la reacción de aglutinación de células mezcladas.

En 1984 Hirohashi et al.<sup>152</sup>, en una serie de 42 pacientes intervenidos por adenocarcinoma de pulmón, demostraron la presencia de los histoantígenos de grupo sanguíneo ABH en las células mucosas normales, la reducción o pérdida de expresión de los mismos en los carcinomas con acumulación de sus precursores y la expresión aberrante de grupos sanguíneos incompatibles.

Álvarez Fernández y Carretero Albiñana<sup>149</sup> en 1991 describen que todas las células del epitelio respiratorio pueden expresar los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH con excepción de las células serosas glandulares. En los tumores, destacan como hecho más significativo la pérdida de expresión del histoantígeno A, pero no encuentran acumulación de sus precursores o expresión aberrante o incompatible del mismo.

Varias publicaciones han tratado de relacionar la pérdida de expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH con el pronóstico. Sin embargo, existe bastante confusión al respecto, ya que los hallazgos descritos por algunos autores, no se han podido confirmar en otros trabajos, lo que en parte podría deberse a las diferencias entre los protocolos de estudio.

En 2000, Moldvay et al.<sup>83</sup> realizaron un estudio sobre diferentes factores pronósticos del carcinoma no microcítico de pulmón resecado quirúrgicamente. Se incluyeron 227 pacientes con carcinomas epidermoides o adenocarcinomas de todos los estadios. En el análisis estadístico encontraron un mejor pronóstico en los pacientes con adenocarcinomas de pulmón que expresan los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH ( $p = 0.024$ ). Esta tendencia se mantenía en los carcinomas epidermoides, pero no se alcanzó la significación estadística.

Por el contrario, Kawai et al.<sup>217</sup>, en un estudio sobre las alteraciones de la expresión de los antígenos glicídicos en 102 adenocarcinomas de pulmón (entre las que se incluían las de los antígenos del grupo sanguíneo ABH), no encontraron relación con el pronóstico en ninguna de las alteraciones estudiadas.

Ogawa et al.<sup>153</sup> estudian una serie de 83 pacientes en la que sólo se incluyeron adenocarcinomas (38 casos) y carcinomas epidermoides

(45 casos) y divide a los pacientes en dos grupos: por un lado los de buen pronóstico, ya que han sobrevivido más de 4 años y por otro los de mal pronóstico, porque fallecieron antes de los 2 años. Se incluyeron pacientes en todos los estadios (25 en estadio I, 8 en estadio II, 42 en estadio III y 3 en estadio IV). Como resultados obtienen:

- La pérdida de la expresión de los histoantígenos de grupo sanguíneo ABH fue mayor en el grupo de mal pronóstico ( $p<0.01$ ).
- La pérdida de la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH sólo se asociaba a un peor pronóstico en los pacientes en estadio I ( $p<0.05$ ).

En este estudio, sólo se incluyen carcinomas epidermoides y adenocarcinomas, por lo que no es aplicable a todo el grupo de los carcinomas no microcíticos. Además, se incluyen pacientes en todos los estadios y se dividen los pacientes en dos grupos (buen y mal pronóstico), en lugar de hacer un estudio según el estadio tumoral. Sólo obtienen una relación pronóstica favorable en los pacientes en estadio I que conservan la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH, al igual que ocurre en nuestro estudio con el histoantígeno A. Sin embargo, la serie es pequeña, se incluyen pacientes con todos los grupos sanguíneos y sólo hay 25 pacientes en estadio I. Por los motivos anteriormente expuestos, los hallazgos de este estudio no son de una gran consistencia, pero son concordantes en lo que se refiere al pronóstico con los resultados obtenidos en el nuestro.

Como se ha comentado en el punto anterior de esta discusión, Matsumoto et al.<sup>154</sup> encontraron que la pérdida de expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH en el cáncer de pulmón se correlacionaba con un mayor potencial metastásico. Ese estudio consistió en una serie quirúrgica de 101 pacientes, con cualquier tipo histológico (incluido el microcítico) y estadio tumoral. En el análisis de supervivencia según el grupo sanguíneo, encontraron sólo una mejora del pronóstico estadísticamente significativa en los pacientes que conservaban la expresión del histoantígeno B (19 pacientes conservaban la expresión y 9 la perdían). Sin embargo, la curva de supervivencia de los 20 pacientes del grupo A que conservaban la expresión de este histoantígeno, frente a los 19 que la perdían, no resultó ser significativa estadísticamente, pero sí clínicamente, pues dicha curva se encontraba claramente por encima en los pacientes que conservaban la expresión del histoantígeno A. Estos hallazgos apoyan los encontrados en nuestro estudio. El que no se alcanzara la significación estadística al analizar la supervivencia en función de la expresión del histoantígeno del grupo A puede deberse al escaso número de la muestra (39 pacientes) y a la inclusión de pacientes de todos los tipos histológicos y estadios quirúrgicos-patológicos.

#### **5.4 Influencia pronóstica de la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en el cáncer de pulmón.**

En nuestra serie de 209 pacientes con grupos sanguíneos A o AB y carcinomas no microcíticos de pulmón en estadio I<sub>p</sub> (según la 7ª edición de la clasificación TNM de los tumores malignos) se demuestra que la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A es un factor pronóstico desfavorable ( $p = 0.03$ ).

Los primeros en proponer esta asociación pronóstica fueron Lee et al.<sup>155</sup> en 1991. En su estudio se incluyeron 164 pacientes intervenidos por carcinoma no microcítico de pulmón en estadios I al III, con un seguimiento medio de más de 60 meses. De ellos, los 28 pacientes con grupos sanguíneos A o AB que no expresaban el histoantígeno A en el tumor tenían una supervivencia menor que los 43 pacientes que conservaban la expresión del mismo ( $p < 0.001$ ). Al estudiar esta influencia por estadios, sólo se obtuvo significación estadística en los estadios I y II. En el estadio III no se alcanzó la significación estadística ( $p = 0.158$ ), pero había una tendencia clínica de mayor supervivencia en los pacientes que conservaban la expresión del histoantígeno A. Concretamente, en estadio I se encontraban 27 pacientes, de los cuales 9 habían perdido la expresión del histoantígeno A y su mediana de supervivencia fue de 19 meses, frente a los 18 pacientes que expresaban el antígeno A, donde no se alcanzó la mediana de supervivencia al final del estudio y cuya



supervivencia a los 5 años fue del 76.5% ( $p<0.001$ ). Debido a estos resultados proponen la realización de ensayos clínicos para valorar la eficacia de la quimioterapia adyuvante, estratificando los pacientes según la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH, sobre todo en pacientes con grupos sanguíneos A o AB que han perdido la expresión tumoral del antígeno A. Los hallazgos de nuestro estudio confirman con una mayor consistencia los encontrados por Lee et al., ya que nuestra serie incluye casi el triple de pacientes.

En 1997, Graziano et al.<sup>156</sup> realizan un estudio en una serie de 260 pacientes intervenidos por carcinoma no microcítico de pulmón en estadios I y II (N1) y un seguimiento medio de más de 60 meses. De ellos, analizan la supervivencia de 90 pacientes con grupos sanguíneos A o AB y obtienen que la pérdida de la expresión del histoantígeno A es el factor predictivo negativo más importante en lo que a supervivencia se refiere. En estadio I había 70 pacientes, de los que 29 habían perdido la expresión del histoantígeno A y tenían una mediana de supervivencia de 41 meses, frente a los 41 pacientes que conservaban la expresión del histoantígeno A y tenían una mediana de supervivencia de 98 meses ( $p<0.01$ ). Al igual que en la publicación de Lee et al., nuestro estudio confirma los hallazgos de Graziano et al., pero en un grupo mucho mayor de pacientes en estadio I.

Ulger et al.<sup>157</sup> en 2002, en una serie de 92 pacientes con carcinoma de pulmón en cualquier estadio y tipo histológico (incluido el microcítico), encontraron que los 26 pacientes de los grupos sanguíneos A o AB con carcinoma no microcítico de pulmón y que mantenían la expresión del histoantígeno A tenían una mayor supervivencia que los 11 que la habían perdido ( $p = 0.0019$ ). En este estudio, la mayoría de los pacientes se encontraban en estadios avanzados, por lo que sugieren que deberían hacerse estudios más amplios para valorar la influencia pronóstica de la pérdida de la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH, que incluyeran pacientes con carcinomas microcíticos y no microcíticos de todos los grupos sanguíneos. Concluyen diciendo que la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A es un factor pronóstico favorable en pacientes con carcinoma no microcítico de pulmón, lo que podría servir para clasificar los pacientes según el pronóstico y como guía para tomar decisiones terapéuticas. Los resultados de nuestro estudio son similares a los de Ulger et al., pero nuestra serie es mucho más amplia y sólo incluye pacientes con carcinoma no microcítico en estadio I<sub>p</sub>, ya que creemos que el estudio del valor pronóstico de la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A está menos influenciado por otras variables, pues está demostrado que los pacientes en estadio I son los que tienen la mayor probabilidad de supervivencia a los 5 años.

Por el contrario, otros artículos como el de Gwin et al.<sup>158</sup> publicado en 1994, no encuentran relación entre el pronóstico y la pérdida de expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A. Estos autores estudiaron una serie de 62 pacientes con grupo sanguíneo A y carcinoma no microcítico de pulmón en cualquier estadio. Debido al escaso número de pacientes en estadios II, IIIB y IV, sólo realizaron un análisis estadístico de la supervivencia en los estadios I y IIIA. En estadio I se encontraban 26 pacientes, de los que 12 mantenían la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A y 14 la habían perdido. De los 25 pacientes en estadio IIIA, 15 habían perdido la expresión de dicho histoantígeno y 10 la mantenían. En ambos estadios realizaron un estudio del intervalo libre de enfermedad. En el estadio I no encontraron diferencias estadísticamente significativas, pero en el estadio IIIA, el resultado fue opuesto a lo que se esperaba, ya que la pérdida de expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A se asociaba a una mejora en el intervalo libre de enfermedad ( $p = 0.0002$ ). Los hallazgos de Gwin et al. contradicen los resultados de los artículos anteriormente expuestos y de los de nuestro estudio. Sin embargo, los resultados no son del todo comparables con los de los artículos referidos anteriormente y los de nuestra serie, ya que no estudian la supervivencia global sino el intervalo libre de enfermedad. Además, hay que destacar que en la serie de Gwin et al. sólo hay 26 pacientes en estadio I, a diferencia de nuestra serie donde se incluyen 209, lo que hace que sus resultados tengan una menor consistencia.

En 1995, en la revista *"The Annals of Thoracic Surgery"* se publicaron los artículos de Rice et al.<sup>159</sup> y Dresler et al.<sup>160</sup> que también contradicen los resultados obtenidos en nuestro estudio.

Rice et al.<sup>159</sup> estudiaron una serie de 103 pacientes con grupos sanguíneos A o AB intervenidos por carcinoma no microcítico de pulmón en estadio I. La mediana de seguimiento fue de 47.6 meses. No encontraron diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia de los pacientes con los tumores que habían perdido la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A y los que mantenían ( $p = 0.57$ ). Los pacientes con tumores T1 tenían una supervivencia a los 5 años del 72.3%, frente a los T2 que era de 57.2%, aunque no se llegó a la significación estadística ( $p = 0.06$ ). Otro hallazgo fue que los pacientes que habían perdido la expresión del histoantígeno A presentaban tumores más indiferenciados ( $p = 0.004$ ).

Dresler et al.<sup>160</sup>, en una serie de 120 pacientes intervenidos por carcinoma no microcítico de pulmón T1-N0 (de la que se excluyeron 3 pacientes porque fallecieron dentro del primer mes postoperatorio) y un seguimiento medio de 40.75 meses, analizaron la influencia pronóstica de la pérdida de la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH utilizando anticuerpos monoclonales anti-A, anti-B y anti-H. Al grupo sanguíneo A pertenecían 55 pacientes. La supervivencia a los 5 años de los 42 pacientes que mantenían la expresión del histoantígeno A en el

tumor fue del 52%, frente al 34% de los 13 que la habían perdido, pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa ( $p = 0.737$ ).

La metodología seguida por Rice et al. y de Dresler et al. es prácticamente la misma que hemos utilizado en nuestro estudio: sólo se han incluidos pacientes en estadios iniciales, se han utilizado anticuerpos monoclonales para el estudio inmunohistoquímico y se han considerado tumores que pierden la expresión del histoantígeno A cuando el porcentaje de células teñidas es menor o igual al 5%. Sin embargo, nuestros resultados son contradictorios con los obtenidos por estos autores. En la serie de Dresler et al. existe una clara tendencia a una mejor supervivencia de los pacientes con grupo sanguíneo A que mantienen la expresión tumoral de este histoantígeno, aunque no se alcanzó la significación estadística, pero en la serie de Rice et al. esta tendencia no se aprecia con tanta claridad. Al tratarse de estudios con metodología similar al nuestro, sólo podemos atribuir la discrepancia de resultados al número de pacientes incluidos, que en nuestra serie es mucho mayor y al tiempo de seguimiento, que en nuestra serie también mayor (seguimiento medio 70.18 meses).

En la tabla XLVI se muestran los principales hallazgos de los artículos más importantes publicados en la literatura sobre la influencia pronóstica de la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en el carcinoma no microcítico de pulmón.

Tabla XLVI

<b>AUTORES</b>	<b>Año</b>	<b>Pacientes grupo A y estadio I</b>	<b>Seguimiento medio (meses)</b>	<b>Influencia pronóstica de la expresión del histoantígeno A</b>
Lee et al. <sup>155</sup>	1991	27	60	Sí
Gwin et al. <sup>158</sup>	1994	26	No referido	No
Rice et al. <sup>159</sup>	1995	103	47	No
Dresler et al. <sup>160</sup>	1995	55 (T1)	40	No
Graziano et al. <sup>156</sup>	1997	70	60	Sí
Ulger et al. <sup>157</sup>	2002	37 (cualquier estadio)	No referido	Sí
Nuestro estudio	2010	209	70	Sí

## 5.5 Resumen y análisis de nuestros resultados.

En la mayoría de los tumores se han descrito cambios en los patrones de glicosilación de los glicolípidos y glicoproteínas de la superficie celular, entre las que se encuentran las alteraciones en la expresión de los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH. Hasta hace

relativamente poco tiempo se pensaba que dichas alteraciones eran consecuencia de la progresiva pérdida de la diferenciación de las células neoplásicas, ya que estos cambios se ven con mayor frecuencia en estadios tumorales avanzados. Sin embargo, estudios recientes parecen indicar que las alteraciones de la glicosilación son un proceso inicial de la carcinogénesis, con gran implicación en la invasión tumoral y en el desarrollo de metástasis<sup>196,197</sup>.

Los histoantígenos del grupo sanguíneo ABH no sólo se encuentran en los glóbulos rojos, sino también en la mayoría de los tejidos epiteliales y en las secreciones. La pérdida de la expresión de los mismos se ha estudiado ampliamente en muchos tipos de tumores y se ha tratado de correlacionarla con el pronóstico<sup>144</sup>. En el caso del cáncer de pulmón se han publicado muy pocos artículos en este sentido. Concretamente, los primeros que relacionaron en el cáncer de pulmón la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A con el pronóstico fueron Lee et al.<sup>155</sup>. Sin embargo, en otros artículos no se ha podido demostrar esa relación pronóstica<sup>158-160</sup>.

Nuestro estudio se ha centrado en determinar el valor pronóstico de la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en pacientes con carcinoma de pulmón no microcítico en estadio I<sub>p</sub>, debido a que en un estudio de determinación de factores pronósticos, los estadios iniciales son los que menos están influenciados por otros elementos cuya

repercusión sobre la supervivencia es de sobra conocida (afectación ganglionar, metástasis a distancia, etc.). Además, se han reestadificado los pacientes según la nueva clasificación TNM de 2009 de la UICC y el AJCC<sup>57,58</sup>, que es más restrictiva en la definición del estadio I, ya que se eliminan los pacientes con tumores mayores de 5 cm que pasan al estadio IIA y los tumores mayores de 7 cm que pasan al estadio IIB. Por otro lado, sólo se han incluido pacientes con carcinoma no microcítico, por el hecho de que el carcinoma microcítico tiene un comportamiento biológico y un pronóstico muy diferente. Por último, se han excluido los pacientes que recibieron tratamiento adyuvante, con el fin de evitar la influencia sobre la supervivencia que el tratamiento complementario conlleva y que podría añadir un factor de confusión a nuestros resultados y conclusiones.

El hecho de realizar un estudio multicéntrico (se han recogido casos de 3 hospitales distintos) nos ha servido para conseguir la serie más amplia publicada en la literatura para el análisis de la influencia pronóstica de la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en cáncer de pulmón (209 pacientes con grupo sanguíneo A o AB en estadio I<sub>p</sub>). El seguimiento medio ha sido de 70.18 meses, con un rango de entre 1.8 y 218.07 meses. Todos estos datos hacen que nuestros resultados estadísticos tengan una gran consistencia.



En nuestra serie, el 52% de los pacientes tenían grupos sanguíneos A o AB, lo que supone un porcentaje levemente superior a las frecuencias fenotípicas del grupo sanguíneo ABO halladas en España<sup>136</sup>. La pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A se produjo en el 40% de los pacientes. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al relacionar la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A con el sexo, la edad, el tipo histológico, el tipo de resección o el estadio, lo que indica que la distribución de la muestra seleccionada es muy homogénea.

Nuestro estudio demuestra que la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en pacientes con carcinoma no microcítico de pulmón en estadio I<sub>p</sub> es un factor pronóstico desfavorable.

También se analizó la supervivencia a los 5 años en función de la pérdida de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A estratificando según el estadio y el descriptor T. En ambos casos, los pacientes que mantenían la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A globalmente tenían una mejor supervivencia. Sin embargo, al realizar las curvas de supervivencia con cada uno de estos factores, sólo se alcanzó la significación estadística en el caso del estadio IA ( $p = 0.038$ ), probablemente por las sucesivas subdivisiones de la muestra, aunque las curvas de supervivencia mostraban una clara tendencia clínica en el resto.

Un hecho relevante se encontró al analizar la supervivencia a los 5 años en función de la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A estratificando según el tipo histológico. En este caso también, los pacientes que mantenían la expresión tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A, globalmente tenían una mejor supervivencia. Sin embargo, al realizar las curvas de supervivencia, los pacientes con adenocarcinoma que perdían la expresión del histoantígeno A tenían un pronóstico peor que los que la mantenían ( $p = 0.003$ ). Esta relación no se vio con tanta claridad en el carcinoma epidermoide. Nuestros hallazgos coinciden con los resultados obtenidos por Moldvay et al.<sup>83</sup> en su estudio sobre factores pronósticos del carcinoma no microcítico de pulmón resecado quirúrgicamente.

Por tanto, en este estudio se demuestra que los pacientes con un adenocarcinoma de pulmón en estadio IA que pierden la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A tienen una menor supervivencia que los que la mantienen, lo que se debería tener en cuenta para realizar un seguimiento más estrecho de este subgrupo de pacientes, con el fin de detectar posibles recidivas y valorar la aplicación de tratamientos individualizados.

En resumen, nuestro estudio confirma los resultados publicados por otros autores<sup>155-157</sup> sobre la función protectora que supone mantener la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en el carcinoma no

microcítico de pulmón en estadio I<sub>p</sub> y que podría estar relacionada con un menor potencial metastásico<sup>154</sup> por inhibición de la motilidad de las células tumorales<sup>154,205,206</sup>, aunque todavía se desconocen los mecanismos responsables. El valor añadido que aporta este trabajo es que es un estudio multicéntrico, que se ha hecho con la serie de pacientes más amplia publicada en la literatura y que la estadificación se ha realizado con la 7ª edición de la clasificación TNM del cáncer de pulmón publicada en 2009<sup>58</sup>.

## **VI. CONCLUSIONES**

---

## **1. Validar nuestra serie de carcinomas no microcíticos en estadio I<sub>p</sub> según el nuevo sistema de estadificación del cáncer de pulmón.**

Los resultados de supervivencia de nuestra serie de 402 pacientes con carcinoma no microcítico de pulmón en estadio I<sub>p</sub> se ajustan a los publicados en la 7ª edición de la clasificación TNM del cáncer de pulmón, por lo que podemos validar nuestra serie de pacientes en estadio I<sub>p</sub> con el nuevo sistema de estadificación de 2009.

### **1.1 Estudio de factores pronósticos.**

- El estadio que otorga la clasificación TNM es el factor pronóstico más importante en los pacientes intervenidos por carcinoma no microcítico de pulmón estadio I<sub>p</sub>. Encontramos diferencias estadísticamente significativas tanto en el análisis por estadios (IA frente a IB), como en el análisis de los descriptores T (T1a, T1b y T2a).
- El sexo masculino y la edad mayor de 70 años son factores pronósticos desfavorables.
- El aumento del tamaño tumoral se correlaciona con un empeoramiento del pronóstico.
- En nuestro estudio, el grupo sanguíneo de los pacientes, el tipo histológico del tumor y el tipo de resección practicada no influyen en la supervivencia.

**2. Análisis de la influencia pronóstica de la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en los carcinomas no microcíticos de pulmón en estadio I<sub>p</sub>.**

- En nuestra serie, un 40% de los pacientes con grupos sanguíneos A o AB pierden la expresión en el tejido tumoral del histoantígeno del grupo sanguíneo A.
- La pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A en pacientes con carcinoma no microcítico de pulmón en estadio I<sub>p</sub> es un factor pronóstico desfavorable.
- Los pacientes con carcinoma no microcítico de pulmón en estadio IA que pierden la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A tienen peor pronóstico.
- Aunque no se alcanzó la significación estadística, los pacientes en estadio IB que pierden la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A presentan una clara tendencia de empeoramiento del pronóstico. Este hecho también se observa en el estudio según el descriptor T (T1a, T1b y T2a).
- En los pacientes con adenocarcinoma, la pérdida de la expresión del histoantígeno del grupo sanguíneo A se asocia con una disminución de la supervivencia a los 5 años.

## **VII. ICONOGRAFÍA**

---

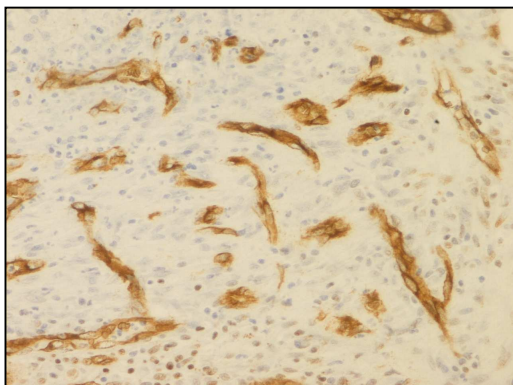


Figura 19. Control interno de la expresión del histoantígeno del grupo A. Se demuestra la intensa tinción positiva del endotelio vascular y los hematíes intravasculares. Tinción inmunohistoquímica para histoantígeno del grupo A. 100x.

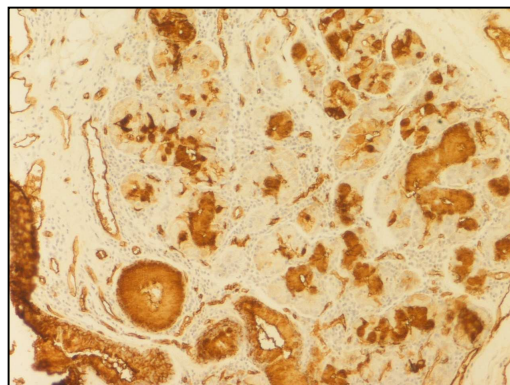


Figura 20. Control interno de la expresión del histoantígeno del grupo A. Se observa como los elementos mucosecretorios de los acinos glandulares de la pared del bronquio y las células ductales se tiñen intensamente, al igual que el endotelio vascular. Tinción inmunohistoquímica para demostración del histoantígeno del grupo A. 40x.

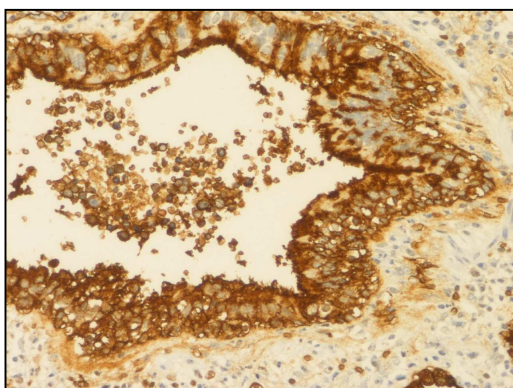


Figura 21. Epitelio bronquiolar en paciente secretor. Control interno. Tinción inmunohistoquímica para histoantígeno del grupo A. 100x.

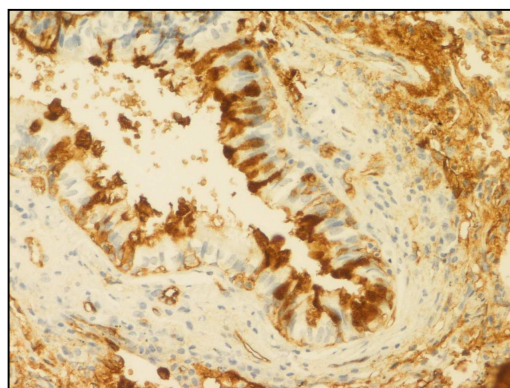


Figura 22. Epitelio bronquiolar en paciente no secretor. Control interno. Tinción inmunohistoquímica para histoantígeno del grupo A. 100x.



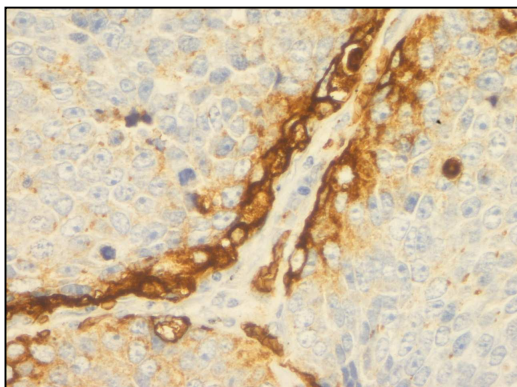


Figura 23. Ribetes de neumocitos tipo II incluidos en la periferia de los cordones tumorales, cuya positividad para el histoantígeno del grupo A puede inducir a una interpretación errónea, haciendo suponer que el tumor es parcialmente positivo. 200x.

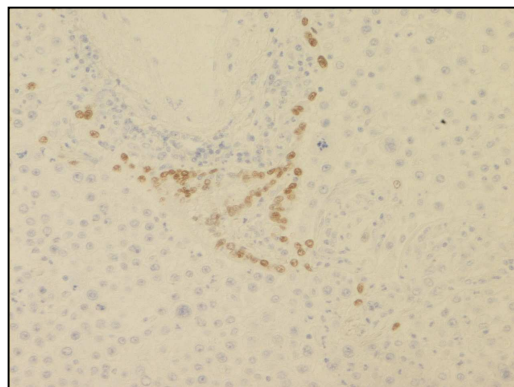


Figura 24. Técnica inmunohistoquímica para la demostración de TTF-1. Se comprueba la positividad de dichos elementos que corresponden a neumocitos tipo II situados en la periferia de los cordones de un carcinoma epidermoide de bajo grado de madurez que no expresa el histoantígeno del grupo A. 40x.

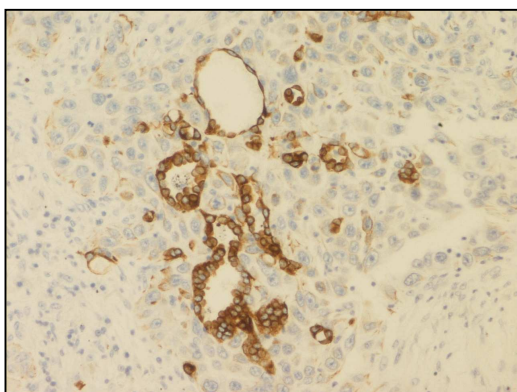


Figura 25. Expresión por los neumocitos tipo II de filamentos intermedios tipo queratina no expresados por el tejido tumoral circundante. Tinción inmunohistoquímica para la demostración de queratina AE1. 100x.

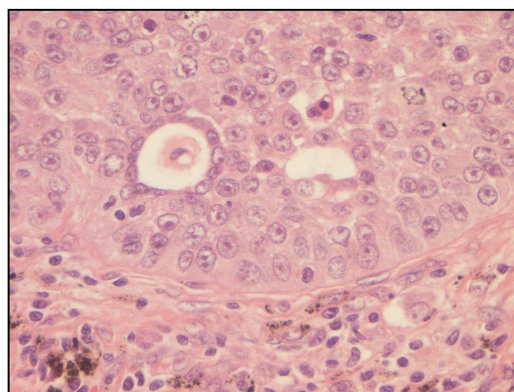


Figura 26. Imagen equivalente a las figuras previas 23, 24 y 25, en la que se demuestran pequeñas cavidades acinares limitadas por neumocitos incluidos en el tumor e interpretables falsamente como signo de diferenciación glandular. Esto sería causa de un falso incremento de la prevalencia del carcinoma adenoescamoso en la serie. Hematoxilina eosina. 200x.

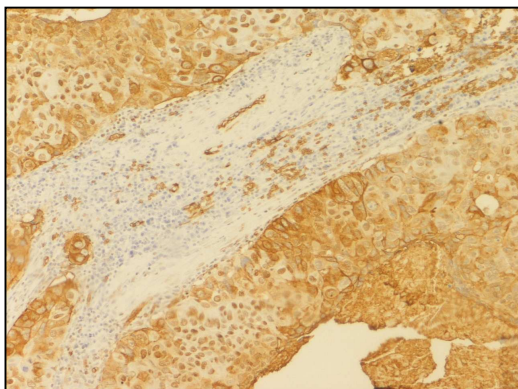


Figura 27. Tumor positivo. Carcinoma epidermoide positivo para la expresión del histoantígeno del grupo A, con control interno positivo (endotelio vascular positivo). 40x.

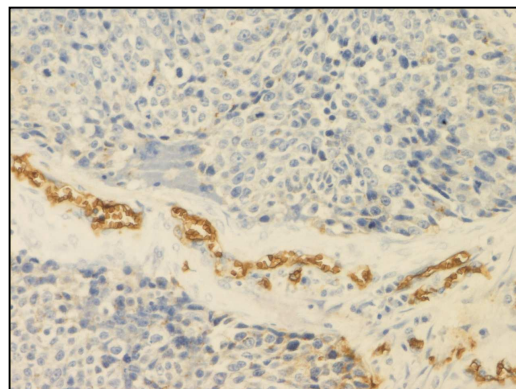


Figura 28. Tumor negativo. Carcinoma epidermoide negativo para la expresión del histoantígeno del grupo A, con control interno positivo (endotelio vascular positivo). 100x.

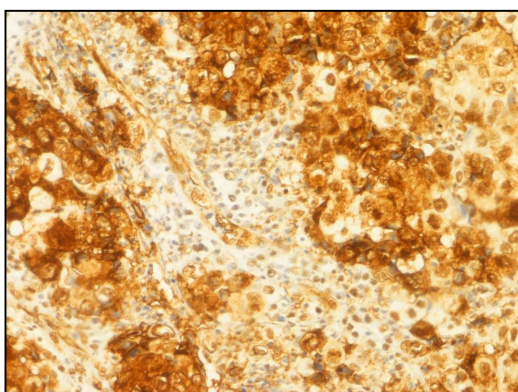


Figura 29. Tumor positivo. Adenocarcinoma de bajo grado de madurez positivo para la expresión del histoantígeno del grupo A, con control interno positivo (endotelio vascular positivo). 100x.

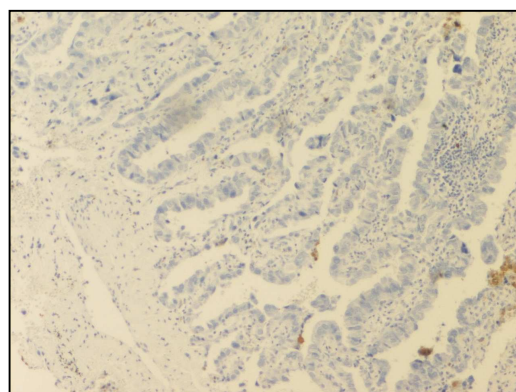


Figura 30. Tumor negativo. Adenocarcinoma negativo para la expresión del histoantígeno del grupo A, con control interno negativo (endotelio vascular negativo). 100x.

## **VIII. BIBLIOGRAFÍA**

---

- 1 Youlden DR, Cramb SM, Baade PD. The International Epidemiology of Lung Cancer: geographical distribution and secular trends. *J Thorac Oncol* 2008; 3:819-831
- 2 Sánchez de Cos Escuín J. El cáncer de pulmón en España. Epidemiología, supervivencia y tratamiento actuales. *Arch Bronconeumol* 2009; 45:341-348
- 3 López Encuentra A. Neoplasias. Clasificación de las neoplasias respiratorias. Carcinoide. Epidemiología y estadificación del carcinoma broncogénico. En: Martín Escribano P, Ramos Seisdedos G y Sanchis Aldás J, Editores. *Medicina Respiratoria* (segunda edición). Madrid: Grupo Aula Médica, S. L, 2006; 61:1065-1080
- 4 Doll R, Hill AB. Smoking and carcinoma of the lung; preliminary report. *Br Med J* 1950; 2:739-748
- 5 Wynder EL, Graham EA. Tobacco smoking as a possible etiologic factor in bronchiogenic carcinoma; a study of 684 proved cases. *J Am Med Assoc* 1950; 143:329-336
- 6 Janssen-Heijnen ML, Coebergh JW. The changing epidemiology of lung cancer in Europe. *Lung Cancer* 2003; 41:245-258
- 7 Hernández Hernández JR, Izarzugaza Lizarraga MI. Epidemiología del cáncer de pulmón en España. En: Ángel López Encuentra y Nicolás Llobregat Poyán, Editores. *Cáncer de pulmón*. Barcelona: Ediciones Doyma, S. L, 2002; 1:5-18

- 8 Boyle P, Ferlay J. Cancer incidence and mortality in Europe, 2004. *Ann Oncol* 2005; 16:481-488
- 9 Ferlay J, Autier P, Boniol M, et al. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 2007; 18:581-592
- 10 López-Abente G, Pollán M, Aragonés N, et al. Situación del cáncer en España: incidencia. *An Sist Sanit Navar* 2004; 27:165-173
- 11 Sánchez de Cos Escuín J, Miravet Sorribes L, Abal Arca J, et al. Estudio multicéntrico epidemiológico-clínico de cáncer de pulmón en España (estudio EpicliCP-2003). *Arch Bronconeumol* 2006; 42:446-452
- 12 Weir HK, Thun MJ, Hankey BF, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2000, featuring the uses of surveillance data for cancer prevention and control. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95:1276-1299
- 13 Imperatori A, Harrison RN, Leitch DN, et al. Lung cancer in Teesside (UK) and Varese (Italy): a comparison of management and survival. *Thorax* 2006; 61:232-239
- 14 Alberg AJ, Ford JG, Samet JM. Epidemiology of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest* 2007; 132:29S-55S
- 15 Estrada Trigueros G, Comeche L, López Encuentra A, et al. Carcinoma broncogénico 2000-2001: características y supervivencia global. *Arch Bronconeumol* 2007; 43:594-598

- 16 Cayuela A, Rodríguez-Domínguez S, López-Campos JL, et al. Mortalidad por cáncer de pulmón en España. Evolución en 25 años (1980-2005). Arch Bronconeumol 2008; 44:70-74
- 17 Verdecchia A, Francisci S, Brenner H, et al. Recent cancer survival in Europe: a 2000-02 period analysis of EURO CARE-4 data. Lancet Oncol 2007; 8:784-796
- 18 Berrino F, De Angelis R, Sant M, et al. Survival for eight major cancers and all cancers combined for European adults diagnosed in 1995-99: results of the EURO CARE-4 study. Lancet Oncol 2007; 8:773-783
- 19 Hackshaw AK, Law MR, Wald NJ. The accumulated evidence on lung cancer and environmental tobacco smoke. Bmj 1997; 315:980-988
- 20 Wingo PA, Ries LA, Giovino GA, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1973-1996, with a special section on lung cancer and tobacco smoking. J Natl Cancer Inst 1999; 91:675-690
- 21 Schwartz AG. Genetic predisposition to lung cancer. Chest 2004; 125:86S-89S
- 22 Gómez Raposo C, De Castro Carpeno J, González Barón M. Factores etiológicos del cáncer de pulmón: fumador activo, fumador pasivo, carcinógenos medioambientales y factores genéticos. Med Clin (Barc) 2007; 128:390-396

- 23 Khuder SA. Effect of cigarette smoking on major histological types of lung cancer: a meta-analysis. *Lung Cancer* 2001; 31:139-148
- 24 Slebos RJ, Hruban RH, Dalesio O, et al. Relationship between K-ras oncogene activation and smoking in adenocarcinoma of the human lung. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83:1024-1027
- 25 Hainaut P, Pfeifer GP. Patterns of p53 G-->T transversions in lung cancers reflect the primary mutagenic signature of DNA-damage by tobacco smoke. *Carcinogenesis* 2001; 22:367-374
- 26 Bilello KS, Murin S, Matthay RA. Epidemiology, etiology, and prevention of lung cancer. *Clin Chest Med* 2002; 23:1-25
- 27 Fong KM, Sekido Y, Gazdar AF, et al. Lung cancer. 9: Molecular biology of lung cancer: clinical implications. *Thorax* 2003; 58:892-900
- 28 Carrion Valero F, Hernandez Hernandez JR. El tabaquismo pasivo en adultos. *Arch Bronconeumol* 2002; 38:137-146
- 29 Besaratinia A, Pfeifer GP. Second-hand smoke and human lung cancer. *Lancet Oncol* 2008; 9:657-666
- 30 López MJ, Pérez-Ríos M, Schiaffino A, et al. Mortality attributable to passive smoking in Spain, 2002. *Tob Control* 2007; 16:373-377
- 31 Darby S, Hill D, Auvinen A, et al. Radon in homes and risk of lung cancer: collaborative analysis of individual data from 13 European case-control studies. *Bmj* 2005; 330:223

- 32 González CA, Agudo A. Occupational cancer in Spain. *Environ Health Perspect* 1999; 107 Suppl 2:273-277
- 33 Boffetta P. Epidemiology of environmental and occupational cancer. *Oncogene* 2004; 23:6392-6403
- 34 Badorrey MI, Monso E, Teixido A, et al. Frecuencia y riesgo de neoplasia broncopulmonar relacionada con asbesto. *Med Clin (Barc)* 2001; 117:1-6
- 35 Kreyberg L. Histological lung cancer types. A morphological and biological correlation. *Acta Pathol Microbiol Scand Suppl* 1962; Suppl 157:1-92
- 36 World Health Organization. Histological Typing of Lung Tumors. Geneva: World Health Organization, 1967
- 37 World Health Organization. Histological Typing of Lung Tumours. Second edition. Geneva: World Health Organization, 1981
- 38 Travis WD, Colby TV, Corrin B, et al. World Health Organization International Histological Classification of Tumors. Histological Typing of Lung and Pleural Tumours. Third edition. Berlin: Springer, 1999
- 39 Travis WD. Pathology of lung cancer. *Clin Chest Med* 2002; 23:65-81
- 40 Travis W.D., Brambilla E., Muller-Hermelink H.K., Harris C.C. (Eds.): World Health Organization Classification of Tumours.



- Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. IARC Press: Lyon 2004
- 41 Beasley MB, Brambilla E, Travis WD. The 2004 World Health Organization classification of lung tumors. *Semin Roentgenol* 2005; 40:90-97
- 42 Sánchez de Cos Escuín J, Miravet L, Abal J, et al. Lung cancer survival in Spain and prognostic factors: a prospective, multiregional study. *Lung Cancer* 2008; 59:246-254
- 43 Hernández-Hernández JR, Heras-Gómez F, Cordovilla-Pérez MR, et al. Incidencia del carcinoma broncopulmonar en Castilla y León y en Cantabria durante el año 2007. Estudio de la Sociedad Castellano-Leonesa y Cántabra de Patología Respiratoria (SOCALPAR). *Arch Bronconeumol* 2010; 46:7-14
- 44 Vassallo B. Historia de la estadificación del carcinoma broncogénico. En: Bartolomé Vassallo, Editor. *Estadificación del carcinoma broncogénico*. Barcelona: Caduceo Multimedia, S. L, 2005; 1:13-51
- 45 Denoix PF. Enquete permanente dans les centres anti-cancereux. *Bull Inst Nat Hyg (Paris)* 1946; 1:70–75
- 46 Denoix PF. The TNM staging system. *Bull Inst Nat Hyg (Paris)* 1952; 7:743

- 47 INTERNATIONAL UNION AGAINST CANCER (UICC), COMMITTEE ON TNM CLASIFICATION. Malignant tumors of the lung: Clinical stage classification and presentation of results. Geneva, 1966
- 48 Goldstraw P, Crowley JJ. The International Association for the Study of Lung Cancer International Staging Project on Lung Cancer. J Thorac Oncol 2006; 1:281–286
- 49 Mountain CF, Carr DT, Anderson WA. A system for the clinical staging of lung cancer. Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med 1974; 120:130-138
- 50 Mountain CF. A new international staging system for lung cancer. Chest 1986; 89:225S-233S
- 51 López Encuentra A, León González C, López Mejías J et al. Grupo de Trabajo de SEPAR. Normativa sobre nomenclatura y clasificación del carcinoma broncogénico. Barcelona: Ediciones Doyma, S. A, 1986
- 52 Mountain CF. Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. Chest 1997; 111:1710-1717
- 53 Pretreatment evaluation of non-small-cell lung cancer. The American Thoracic Society and The European Respiratory Society. Am J Respir Crit Care Med 1997; 156:320-332
- 54 Normativa actualizada (1998) sobre diagnóstico y estadificación del carcinoma broncogénico. Grupo de Trabajo de la SEPAR. Arch Bronconeumol 1998; 34:437-452

- 55 Naruke T, Tsuchiya R, Kondo H, et al. Prognosis and survival after resection for bronchogenic carcinoma based on the 1997 TNM-staging classification: the Japanese experience. *Ann Thorac Surg* 2001; 71:1759-1764
- 56 López-Encuentra A, Bulzebruck H, Feinstein AR, et al. Tumor staging and classification in lung cancer. Summary of the international symposium. Madrid, Spain, 3-4 December 1999. *Lung Cancer* 2000; 29:79-83
- 57 Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumours. *J Thorac Oncol* 2007; 2:706-714
- 58 Detterbeck FC, Boffa DJ, Tanoue LT. The new lung cancer staging system. *Chest* 2009; 136:260-271
- 59 American Thoracic Society. Medical section of the American Lung Association. Clinical staging of primary lung cancer. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127:659-664
- 60 Naruke T, Suemasu K, Ishikawa S. Lymph node mapping and curability at various levels of metastasis in resected lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1978; 76:832-839
- 61 Mountain CF, Dresler CM. Regional lymph node classification for lung cancer staging. *Chest* 1997; 111:1718-1723

- 62 Fleming ID, Cooper JS, Henson DE et al, editores. AJCC cancer staging manual (5ªed.). Filadelfia: Lippincott-Raven, 1997
- 63 Hermanek P, Hutter RVP, Sobin LH et al, editores. International Union Against Cancer TNM Atlas (4ª ed). Berlín: Springer, 1997
- 64 Rusch VW, Asamura H, Watanabe H, et al. The IASLC lung cancer staging project: a proposal for a new international lymph node map in the forthcoming seventh edition of the TNM classification for lung cancer. J Thorac Oncol 2009; 4:568-577
- 65 The Japan Lung Cancer Society. Classification of Lung Cancer. Tokyo: Kanehara & Co; 2000
- 66 Sánchez Torres JM, Tarón Roca M, Rosell Costa R. Estadificación biomolecular. En: Bartolomé Vassallo, Editor. Estadificación del carcinoma broncogénico. Barcelona: Caduceo Multimedia, S. L, 2005; 1:13-51
- 67 Choma D, Daures JP, Quantin X, et al. Aneuploidy and prognosis of non-small-cell lung cancer: a meta-analysis of published data. Br J Cancer 2001; 85:14-22
- 68 Tepeli E, Muslumanoglu MH, Uludag A, et al. Detection of deletions and/or amplifications of genes related with lung cancer by multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) technique. Cancer Biol Ther 2009; 8:2160-2165

- 69 Ogiwara H, Kohno T, Nakanishi H, et al. Unbalanced translocation, a major chromosome alteration causing loss of heterozygosity in human lung cancer. *Oncogene* 2008; 27:4788-4797
- 70 Beau-Faller M, Legrain M, Voegeli AC, et al. Detection of K-Ras mutations in tumour samples of patients with non-small cell lung cancer using PNA-mediated PCR clamping. *Br J Cancer* 2009; 100:985-992
- 71 Kang JU, Koo SH, Kwon KC, et al. Gain at chromosomal region 5p15.33, containing TERT, is the most frequent genetic event in early stages of non-small cell lung cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 2008; 182:1-11
- 72 Sánchez-Céspedes M, Ahrendt SA, Piantadosi S, et al. Chromosomal alterations in lung adenocarcinoma from smokers and nonsmokers. *Cancer Res* 2001; 61:1309-1313
- 73 Mountzios G, Fouret P, Soria JC. Mechanisms of Disease: signal transduction in lung carcinogenesis -- a comparison of smokers and never-smokers. *Nat Clin Pract Oncol* 2008; 5:610-618
- 74 Mountzios G, Dimopoulos MA, Soria JC, et al. Histopathologic and genetic alterations as predictors of response to treatment and survival in lung cancer: A review of published data. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009
- 75 Brambilla E, Lantuejoul S, Sturm N. [Classification and pathogenesis of lung carcinoma]. *Rev Prat* 2003; 53:714-720

- 76    Bucchieri G, Ferrigno D. Prognostic factors in lung cancer: tables and comments. *Eur Respir J* 1994; 7:1350-1364
- 77    Brundage MD, Davies D, Mackillop WJ. Prognostic factors in non-small cell lung cancer: a decade of progress. *Chest* 2002; 122:1037-1057
- 78    Chansky K, Sculier JP, Crowley JJ, et al. The International Association for the Study of Lung Cancer Staging Project: prognostic factors and pathologic TNM stage in surgically managed non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2009; 4:792-801
- 79    Sculier JP, Chansky K, Crowley JJ, et al. The impact of additional prognostic factors on survival and their relationship with the anatomical extent of disease expressed by the 6th Edition of the TNM Classification of Malignant Tumors and the proposals for the 7th Edition. *J Thorac Oncol* 2008; 3:457-466
- 80    López-Encuentra A, Duque-Medina JL, Rami-Porta R, et al. Staging in lung cancer: is 3 cm a prognostic threshold in pathologic stage I non-small cell lung cancer? A multicenter study of 1,020 patients. *Chest* 2002; 121:1515-1520
- 81    Rami-Porta R, Ball D, Crowley J, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the T descriptors in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification for lung cancer. *J Thorac Oncol* 2007; 2:593-602

- 82 Travis WD, Garg K, Franklin WA, et al. Bronchioloalveolar carcinoma and lung adenocarcinoma: the clinical importance and research relevance of the 2004 World Health Organization pathologic criteria. *J Thorac Oncol* 2006; 1:S13-19
- 83 Moldvay J, Scheid P, Wild P, et al. Predictive survival markers in patients with surgically resected non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000; 6:1125-1134
- 84 Solan MJ, Werner-Wasik M. Prognostic factors in non-small cell lung cancer. *Semin Surg Oncol* 2003; 21:64-73
- 85 García-Yuste M, Matilla JM, Álvarez-Gago T, et al. Prognostic factors in neuroendocrine lung tumors: a Spanish Multicenter Study. Spanish Multicenter Study of Neuroendocrine Tumors of the Lung of the Spanish Society of Pneumology and Thoracic Surgery (EMETNE-SEPAR). *Ann Thorac Surg* 2000; 70:258-263
- 86 González-Aragoneses F, Moreno-Mata N, Cebollero-Presmanes M, et al. Prognostic significance of synaptophysin in stage I of squamous carcinoma and adenocarcinoma of the lung. *Cancer* 2007; 110:1776-1781
- 87 García-Yuste M, Molins L, Matilla JM, et al. Tendencias en los factores pronósticos de los tumores pulmonares neuroendocrinos. *Arch Bronconeumol* 2007; 43:549-556
- 88 Ginsberg RJ, Rubinstein LV. Randomized trial of lobectomy versus limited resection for T1 N0 non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*

- Study Group. *Ann Thorac Surg* 1995; 60:615-622; discussion 622-613
- 89 Coate LE, John T, Tsao MS, et al. Molecular predictive and prognostic markers in non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol* 2009; 10:1001-1010
- 90 West H, Lilenbaum R, Harpole D, et al. Molecular analysis-based treatment strategies for the management of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2009; 4:S1029-1039; quiz S1041-1022
- 91 Tsuboi M, Ohira T, Saji H, et al. The present status of postoperative adjuvant chemotherapy for completely resected non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2007; 13:73-77
- 92 Muller-Tidow C, Diederichs S, Thomas M, et al. Genome-wide screening for prognosis-predicting genes in early-stage non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2004; 45 Suppl 2:S145-150
- 93 Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100:57-70
- 94 Eccles SA, Welch DR. Metastasis: recent discoveries and novel treatment strategies. *Lancet* 2007; 369:1742-1757
- 95 D'Amico TA. Angiogenesis in non-small cell lung cancer. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 16:13-18
- 96 Krishnan K, Khanna C, Helman LJ. The molecular biology of pulmonary metastasis. *Thorac Surg Clin* 2006; 16:115-124



- 97 Liotta LA, Kleinerman J, Catanzaro P, et al. Degradation of basement membrane by murine tumor cells. *J Natl Cancer Inst* 1977; 58:1427-1431
- 98 Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971; 285:1182-1186
- 99 Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin Oncol* 2002; 29:15-18
- 100 Scagliotti GV, Selvaggi G, Novello S, et al. The biology of epidermal growth factor receptor in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10:4227s-4232s
- 101 Zheng Z, Bepler G, Cantor A, et al. Small tumor size and limited smoking history predicts activated epidermal growth factor receptor in early-stage non-small cell lung cancer. *Chest* 2005; 128:308-316
- 102 Prieto Sánchez M, León Fradejas M, Bautista Ojeda M. c-kit y EGFR. Alteraciones moleculares de valor pronóstico en el cáncer de pulmón. *Rev Esp Patol* 2007; 40:23-31
- 103 Chemotherapy in non-small cell lung cancer: a meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomised clinical trials. Non-small Cell Lung Cancer Collaborative Group. *Bmj* 1995; 311:899-909
- 104 Visbal AL, Leighl NB, Feld R, et al. Adjuvant Chemotherapy for Early-Stage Non-small Cell Lung Cancer. *Chest* 2005; 128:2933-2943

- 105 Scagliotti G. Multimodality approach to early-stage non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2007; 57 Suppl 2:S6-11
- 106 Suehisa H, Toyooka S. Adjuvant chemotherapy for completely resected non-small-cell lung cancer. *Acta Med Okayama* 2009; 63:223-230
- 107 Fell SC. Special article: a brief history of pneumonectomy. 1999. *Chest Surg Clin N Am* 2002; 12:541-563
- 108 Mountain CF. The evolution of the surgical treatment of lung cancer. *Chest Surg Clin N Am* 2000; 10:83-104
- 109 Reif MS, Socinski MA, Rivera MP. Evidence-based medicine in the treatment of non-small-cell lung cancer. *Clin Chest Med* 2000; 21:107-120
- 110 Wright G, Manser RL, Byrnes G, et al. Surgery for non-small cell lung cancer: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Thorax* 2006; 61:597-603
- 111 Scott WJ, Howington J, Feigenberg S, et al. Treatment of non-small cell lung cancer stage I and stage II: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest* 2007; 132:234S-242S
- 112 Nakamura H, Kazuyuki S, Kawasaki N, et al. History of limited resection for non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 11:356-362
- 113 Travis WD, Garg K, Franklin WA, et al. Evolving concepts in the pathology and computed tomography imaging of lung

- adenocarcinoma and bronchioloalveolar carcinoma. *J Clin Oncol* 2005; 23:3279-3287
- 114 Okada M, Nishio W, Sakamoto T, et al. Correlation between computed tomographic findings, bronchioloalveolar carcinoma component, and biologic behavior of small-sized lung adenocarcinomas. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 127:857-861
- 115 Okada M, Koike T, Higashiyama M, et al. Radical sublobar resection for small-sized non-small cell lung cancer: a multicenter study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 132:769-775
- 116 Shimizu K, Yamada K, Saito H, et al. Surgically curable peripheral lung carcinoma: correlation of thin-section CT findings with histologic prognostic factors and survival. *Chest* 2005; 127:871-878
- 117 Nakayama H, Yamada K, Saito H, et al. Sublobar resection for patients with peripheral small adenocarcinomas of the lung: surgical outcome is associated with features on computed tomographic imaging. *Ann Thorac Surg* 2007; 84:1675-1679
- 118 Arenberg D. Bronchioloalveolar lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest* 2007; 132:306S-313S
- 119 Watanabe Y, Shimizu J, Tsubota M, et al. Mediastinal spread of metastatic lymph nodes in bronchogenic carcinoma. Mediastinal nodal metastases in lung cancer. *Chest* 1990; 97:1059-1065

- 120 de Langen AJ, Raijmakers P, Riphagen I, et al. The size of mediastinal lymph nodes and its relation with metastatic involvement: a meta-analysis. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006; 29:26-29
- 121 Duque Medina JL, Vasallo B, Smith DE, et al. Estadificación intraoperatoria. En: Bartolomé Vassallo, Editor. Estadificación del carcinoma broncogénico. Barcelona: Caduceo Multimedia, S. L, 2005; 7:189-216
- 122 Estadificación ganglionar intraoperatoria en la cirugía del carcinoma broncogénico. Documento de consenso. *Arch Bronconeumol* 2001; 37:495-503
- 123 Izbickei JR, Passlick B, Pantel K, et al. Effectiveness of radical systematic mediastinal lymphadenectomy in patients with resectable non-small cell lung cancer: results of a prospective randomized trial. *Ann Surg* 1998; 227:138-144
- 124 Keller SM, Adak S, Wagner H, et al. Mediastinal lymph node dissection improves survival in patients with stages II and IIIa non-small cell lung cancer. Eastern Cooperative Oncology Group. *Ann Thorac Surg* 2000; 70:358-365; discussion 365-356
- 125 De Giacomo T, Venuta F, Rendina EA. Role of lymphadenectomy in the treatment of clinical stage I non-small cell lung cancer. *Thorac Surg Clin* 2007; 17:217-221

- 126 De Leyn P, Rots W, Deneffe G, et al. Sleeve lobectomy for non-small cell lung cancer. *Acta Chir Belg* 2003; 103:570-576
- 127 Ma Z, Dong A, Fan J, et al. Does sleeve lobectomy concomitant with or without pulmonary artery reconstruction (double sleeve) have favorable results for non-small cell lung cancer compared with pneumonectomy? A meta-analysis. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007; 32:20-28
- 128 Suen HC, Meyers BF, Guthrie T, et al. Favorable results after sleeve lobectomy or bronchoplasty for bronchial malignancies. *Ann Thorac Surg* 1999; 67:1557-1562
- 129 Yamamoto K, Ohsumi A, Kojima F, et al. Long-term survival after video-assisted thoracic surgery lobectomy for primary lung cancer. *Ann Thorac Surg*; 89:353-359
- 130 Roviato G, Varoli F, Vergani C, et al. Long-term survival after videothoracoscopic lobectomy for stage I lung cancer. *Chest* 2004; 126:725-732
- 131 Whitson BA, Andrade RS, Boettcher A, et al. Video-assisted thoracoscopic surgery is more favorable than thoracotomy for resection of clinical stage I non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2007; 83:1965-1970
- 132 Whitson BA, Groth SS, Duval SJ, et al. Surgery for early-stage non-small cell lung cancer: a systematic review of the video-assisted thoracoscopic surgery versus thoracotomy approaches to

- lobectomy. *Ann Thorac Surg* 2008; 86:2008-2016; discussion 2016-2008
- 133 Tomaszek SC, Cassivi SD, Shen KR, et al. Clinical outcomes of video-assisted thoracoscopic lobectomy. *Mayo Clin Proc* 2009; 84:509-513
- 134 Walker WS, Leaver HA. Immunologic and stress responses following video-assisted thoracic surgery and open pulmonary lobectomy in early stage lung cancer. *Thorac Surg Clin* 2007; 17:241-249
- 135 Craig SR, Leaver HA, Yap PL, et al. Acute phase responses following minimal access and conventional thoracic surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001; 20:455-463
- 136 Martín Vega C. Grupos sanguíneos. En: P. Farreras y C. Rozman, Editores. *Medicina interna* (decimocuarta edición). Madrid: Ediciones Harcourt, S. A, 2000; 233:2049-2054
- 137 Daniels GL, Fletcher A, Garratty G, et al. Blood group terminology 2004: from the International Society of Blood Transfusion committee on terminology for red cell surface antigens. *Vox Sang* 2004; 87:304-316
- 138 Szulman AE. The histological distribution of blood group substances A and B in man. *J Exp Med* 1960; 111:785-800
- 139 Watkins WM. Biochemistry and Genetics of the ABO, Lewis, and P blood group systems. *Adv Hum Genet* 1980; 10:1-136, 379-185

- 140 Hosoi E. Biological and clinical aspects of ABO blood group system. J Med Invest 2008; 55:174-182
- 141 Rouquier S, Lowe JB, Kelly RJ, et al. Molecular cloning of a human genomic region containing the H blood group alpha(1,2)fucosyltransferase gene and two H locus-related DNA restriction fragments. Isolation of a candidate for the human Secretor blood group locus. J Biol Chem 1995; 270:4632-4639
- 142 Hosoi E, Hirose M, Hamano S. Expression levels of H-type alpha(1,2)-fucosyltransferase gene and histo-blood group ABO gene corresponding to hematopoietic cell differentiation. Transfusion 2003; 43:65-71
- 143 Oriol R, Candelier JJ, Mollicone R. Molecular genetics of H. Vox Sang 2000; 78 Suppl 2:105-108
- 144 Le Pendu J, Marionneau S, Cailleau-Thomas A, et al. ABH and Lewis histo-blood group antigens in cancer. Apmis 2001; 109:9-31
- 145 Ravn V, Dabelsteen E. Tissue distribution of histo-blood group antigens. Apmis 2000; 108:1-28
- 146 Hakomori S. Antigen structure and genetic basis of histo-blood groups A, B and O: their changes associated with human cancer. Biochim Biophys Acta 1999; 1473:247-266
- 147 Sell S. Cancer-associated carbohydrates identified by monoclonal antibodies. Hum Pathol 1990; 21:1003-1019

- 148 Masamune H, Kawasaki H, Abe S, et al. Molischpositive mucopolysaccharides of gastric cancers as compared with the corresponding components of gastric mucosae. 1. Fractionation procedure of gastric cancer and gastric mucosa. *Tohoku J Exp Med* 1958; 68:81-91
- 149 Álvarez-Fernández E, Carretero-Albiñana L. Expression of blood group antigens by normal bronchopulmonary tissues and common forms of pulmonary carcinomas. *Arch Pathol Lab Med* 1991; 115:42-49
- 150 Sánchez-Mora N, Cebollero Presmanes M, Monroy V, et al. Expression of histo-blood group antigens in bronchial squamous metaplasia. *Eur Respir J* 2007; 29:268-272
- 151 Davidsohn I, Ni LY. Loss of isoantigens A, B, and H in carcinoma of the lung. *Am J Pathol* 1969; 57:307-334
- 152 Hirohashi S, Ino Y, Kodama T, et al. Distribution of blood group antigens A, B, H, and I(Ma) in mucus-producing adenocarcinoma of human lung. *J Natl Cancer Inst* 1984; 72:1299-1305
- 153 Ogawa J, Iwazaki M, Inoue H, et al. Relation of ABH blood group antigen expression to prognosis in lung carcinoma. *Tokai J Exp Clin Med* 1987; 12:49-54
- 154 Matsumoto H, Muramatsu H, Shimotakahara T, et al. Correlation of expression of ABH blood group carbohydrate antigens with



- metastatic potential in human lung carcinomas. *Cancer* 1993; 72:75-81
- 155 Lee JS, Ro JY, Sahin AA, et al. Expression of blood-group antigen A--a favorable prognostic factor in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 1991; 324:1084-1090
- 156 Graziano SL, Tatum AH, Gonchoroff NJ, et al. Blood group antigen A and flow cytometric analysis in resected early-stage non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 1997; 3:87-93
- 157 Ulger AF, Keklik T, Kumbasar OO, et al. Prognostic significance of blood group antigen expression of tumor tissue in lung cancer patients. *Tumori* 2002; 88:395-399
- 158 Gwin JL, Klein-Szanto AJ, Zhang SY, et al. Loss of blood group antigen A in non-small cell lung cancer. *Ann Surg Oncol* 1994; 1:423-427
- 159 Rice TW, Tubbs RR, Hoeltge GA, et al. Expression of blood group antigen A by stage I non-small cell lung carcinomas. *Ann Thorac Surg* 1995; 59:568-572
- 160 Dresler CM, Ritter JH, Wick MR, et al. Immunostains for blood group antigens lack prognostic significance in T1 lung carcinoma. *Ann Thorac Surg* 1995; 59:1069-1073
- 161 Martini N, Melamed MR. Multiple primary lung cancers. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975; 70:606-612

- 162 Martini N, Bains MS, Burt ME, et al. Incidence of local recurrence and second primary tumors in resected stage I lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 109:120-129
- 163 Rusch VW, Crowley J, Giroux DJ, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the N descriptors in the forthcoming seventh edition of the TNM classification for lung cancer. *J Thorac Oncol* 2007; 2:603-612
- 164 Postmus PE, Brambilla E, Chansky K, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for revision of the M descriptors in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification of lung cancer. *J Thorac Oncol* 2007; 2:686-693
- 165 Groome PA, Bolejack V, Crowley JJ, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: validation of the proposals for revision of the T, N, and M descriptors and consequent stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification of malignant tumours. *J Thorac Oncol* 2007; 2:694-705
- 166 Goldstraw P. The 7th Edition of TNM in Lung Cancer: what now? *J Thorac Oncol* 2009; 4:671-673
- 167 Shepherd FA, Crowley J, Van Houtte P, et al. The International Association for the Study of Lung Cancer lung cancer staging project: proposals regarding the clinical staging of small cell lung cancer in the forthcoming (seventh) edition of the tumor, node,

- metastasis classification for lung cancer. *J Thorac Oncol* 2007; 2:1067-1077
- 168 Travis WD, Giroux DJ, Chansky K, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the inclusion of broncho-pulmonary carcinoid tumors in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 2008; 3:1213-1223
- 169 Travis WD, Brambilla E, Rami-Porta R, et al. Visceral pleural invasion: pathologic criteria and use of elastic stains: proposal for the 7th edition of the TNM classification for lung cancer. *J Thorac Oncol* 2008; 3:1384-1390
- 170 Giroux DJ, Rami-Porta R, Chansky K, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: data elements for the prospective project. *J Thorac Oncol* 2009; 4:679-683
- 171 Vallieres E, Shepherd FA, Crowley J, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals regarding the relevance of TNM in the pathologic staging of small cell lung cancer in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification for lung cancer. *J Thorac Oncol* 2009; 4:1049-1059
- 172 Nakamura H, Kawasaki N, Taguchi M, et al. Survival following lobectomy vs limited resection for stage I lung cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2005; 92:1033-1037

- 173 Sugi K, Kobayashi S, Sudou M, et al. Long-term prognosis of video-assisted limited surgery for early lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg*; 37:456-460
- 174 Chamogeorgakis T, Ieromonachos C, Georgiannakis E, et al. Does lobectomy achieve better survival and recurrence rates than limited pulmonary resection for T1N0M0 non-small cell lung cancer patients? *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2009; 8:364-372
- 175 Hascall VC. Hyaluronan, a common thread. *Glycoconj J* 2000; 17:607-616
- 176 Hakomori S. Structure, organization, and function of glycosphingolipids in membrane. *Curr Opin Hematol* 2003; 10:16-24
- 177 Roseman S. Reflections on glycobiology. *J Biol Chem* 2001; 276:41527-41542
- 178 Fukuda M. Possible roles of tumor-associated carbohydrate antigens. *Cancer Res* 1996; 56:2237-2244
- 179 Bruckner K, Perez L, Clausen H, et al. Glycosyltransferase activity of Fringe modulates Notch-Delta interactions. *Nature* 2000; 406:411-415
- 180 Kannagi R, Yin J, Miyazaki K, et al. Current relevance of incomplete synthesis and neo-synthesis for cancer-associated alteration of carbohydrate determinants--Hakomori's concepts revisited. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1780:525-531

- 181 Fuster MM, Brown JR, Wang L, et al. A disaccharide precursor of sialyl Lewis X inhibits metastatic potential of tumor cells. *Cancer Res* 2003; 63:2775-2781
- 182 Collins BE, Paulson JC. Cell surface biology mediated by low affinity multivalent protein-glycan interactions. *Curr Opin Chem Biol* 2004; 8:617-625
- 183 Sharon N. Carbohydrate-lectin interactions in infectious disease. *Adv Exp Med Biol* 1996; 408:1-8
- 184 Rudd PM, Elliott T, Cresswell P, et al. Glycosylation and the immune system. *Science* 2001; 291:2370-2376
- 185 Lowe JB. Glycan-dependent leukocyte adhesion and recruitment in inflammation. *Curr Opin Cell Biol* 2003; 15:531-538
- 186 Ghosh P, Dahms NM, Kornfeld S. Mannose 6-phosphate receptors: new twists in the tale. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4:202-212
- 187 Sharon N, Lis H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology* 2004; 14:53R-62R
- 188 Liu FT, Patterson RJ, Wang JL. Intracellular functions of galectins. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1572:263-273
- 189 Schlessinger J, Lax I, Lemmon M. Regulation of growth factor activation by proteoglycans: what is the role of the low affinity receptors? *Cell* 1995; 83:357-360

- 190 Hakomori SI. Structure and function of glycosphingolipids and sphingolipids: recollections and future trends. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1780:325-346
- 191 Hakomori S, Handa K. Glycosphingolipid-dependent cross-talk between glycosynapses interfacing tumor cells with their host cells: essential basis to define tumor malignancy. *FEBS Lett* 2002; 531:88-92
- 192 Yamamoto F, Clausen H, White T, et al. Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. *Nature* 1990; 345:229-233
- 193 Tanaka A, Kimura A, Yamamoto Y, et al. Expression of histo-blood group A type 1, 2 and 3 antigens in normal skin and extramammary Paget's disease. *Acta Histochem Cytochem* 2008; 41:165-171
- 194 Yamamoto F, McNeill PD, Hakomori S. Human histo-blood group A2 transferase coded by A2 allele, one of the A subtypes, is characterized by a single base deletion in the coding sequence, which results in an additional domain at the carboxyl terminal. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 187:366-374
- 195 Ono M, Hakomori S. Glycosylation defining cancer cell motility and invasiveness. *Glycoconj J* 2004; 20:71-78
- 196 Gao S, Worm J, Guldberg P, et al. Genetic and epigenetic alterations of the blood group ABO gene in oral squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2004; 109:230-237

- 197 Hakomori S. Glycosylation defining cancer malignancy: new wine in an old bottle. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99:10231-10233
- 198 Hakomori S. Tumor-associated carbohydrate antigens defining tumor malignancy: basis for development of anti-cancer vaccines. *Adv Exp Med Biol* 2001; 491:369-402
- 199 Fuster MM, Esko JD. The sweet and sour of cancer: glycans as novel therapeutic targets. *Nat Rev Cancer* 2005; 5:526-542
- 200 Cartron JP, Colin Y. Structural and functional diversity of blood group antigens. *Transfus Clin Biol* 2001; 8:163-199
- 201 Takahashi M, Tsuda T, Ikeda Y, et al. Role of N-glycans in growth factor signaling. *Glycoconj J* 2004; 20:207-212
- 202 Aird I, Bentall HH, Roberts JA. A relationship between cancer of stomach and the ABO blood groups. *Br Med J* 1953; 1:799-801
- 203 Marionneau S, Le Moullac-Vaidye B, Le Pendu J. Expression of histo-blood group A antigen increases resistance to apoptosis and facilitates escape from immune control of rat colon carcinoma cells. *Glycobiology* 2002; 12:851-856
- 204 Kuemmel A, Single K, Bittinger F, et al. The prognostic impact of blood group-related antigen Lewis Y and the ABH blood groups in resected non-small cell lung cancer. *Tumour Biol* 2007; 28:340-349
- 205 Ichikawa D, Handa K, Withers DA, et al. Histo-blood group A/B versus H status of human carcinoma cells as correlated with

- haptotactic cell motility: approach with A and B gene transfection. *Cancer Res* 1997; 57:3092-3096
- 206 Ichikawa D, Handa K, Hakomori S. Histo-blood group A/B antigen deletion/reduction vs. continuous expression in human tumor cells as correlated with their malignancy. *Int J Cancer* 1998; 76:284-289
- 207 Moro-Rodríguez E, Álvarez-Fernández E. Losses of expression of the antigens A, Lea and Lex and over-expression of Ley in carcinomas and HG-SIL of the uterine cervix. *Diagn Pathol* 2008; 3:38
- 208 Kominato Y, Hata Y, Matsui K, et al. Regulation of ABO gene expression. *Leg Med (Tokyo)* 2005; 7:263-265
- 209 Das G, Buxton NJ, Stewart PA, et al. Prognostic significance of ABH antigenicity of mucosal biopsies in superficial bladder cancer. *J Urol* 1986; 136:1194-1196
- 210 Malmstrom PU, Busch C, Norlen BJ, et al. Expression of ABH blood group isoantigen as a prognostic factor in transitional cell bladder carcinoma. *Scand J Urol Nephrol* 1988; 22:265-270
- 211 Wolf GT, Carey TE, Schmaltz SP, et al. Altered antigen expression predicts outcome in squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82:1566-1572
- 212 Dabelsteen E, Gao S. ABO blood-group antigens in oral cancer. *J Dent Res* 2005; 84:21-28



- 213 Nakagoe T, Nanashima A, Sawai T, et al. Expression of blood group antigens A, B and H in carcinoma tissue correlates with a poor prognosis for colorectal cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000; 126:375-382
- 214 Tsuboi K, Asao T, Ide M, et al. Alpha1,2fucosylation is a superior predictor of postoperative prognosis for colorectal cancer compared with blood group A, B, or sialyl Lewis X antigen generated within colorectal tumor tissues. *Ann Surg Oncol* 2007; 14:1880-1889
- 215 Welshinger M, Finstad CL, Venkatraman E, et al. Expression of A, B, and H blood group antigens in epithelial ovarian cancer: relationship to tumor grade and patient survival. *Gynecol Oncol* 1996; 62:106-112
- 216 Lee AK, DeLellis RA, Rosen PP, et al. ABH blood group isoantigen expression in breast carcinomas--an immunohistochemical evaluation using monoclonal antibodies. *Am J Clin Pathol* 1985; 83:308-319
- 217 Kawai T, Suzuki M, Kase K, et al. Expression of carbohydrate antigens in human pulmonary adenocarcinoma. *Cancer* 1993; 72:1581-1587